Faculty of Health Sciences

Basal statistik

Logaritmer, Kovariansanalyse, Interaktion, i R

Lene Theil Skovgaard

28. september 2020

Logaritmer og kovariansanalyse

- Parret sammenligning af målemetoder,
  med logaritmer
- Kovariansanalyse: Confouding og mediering
- Sammenligning af hældninger
  Interaktion - igen
- Kovariansanalyse:
  Eksempel om baseline og follow-up

E-mail: ltsk@sund.ku.dk

∗: Siden er lidt teknisk

Sammenligning af målemetoder

(jvf. eksemplet MF vs. SV fra første forelæsning)
To forskellige metoder til bestemmelse af glucosekoncentration.

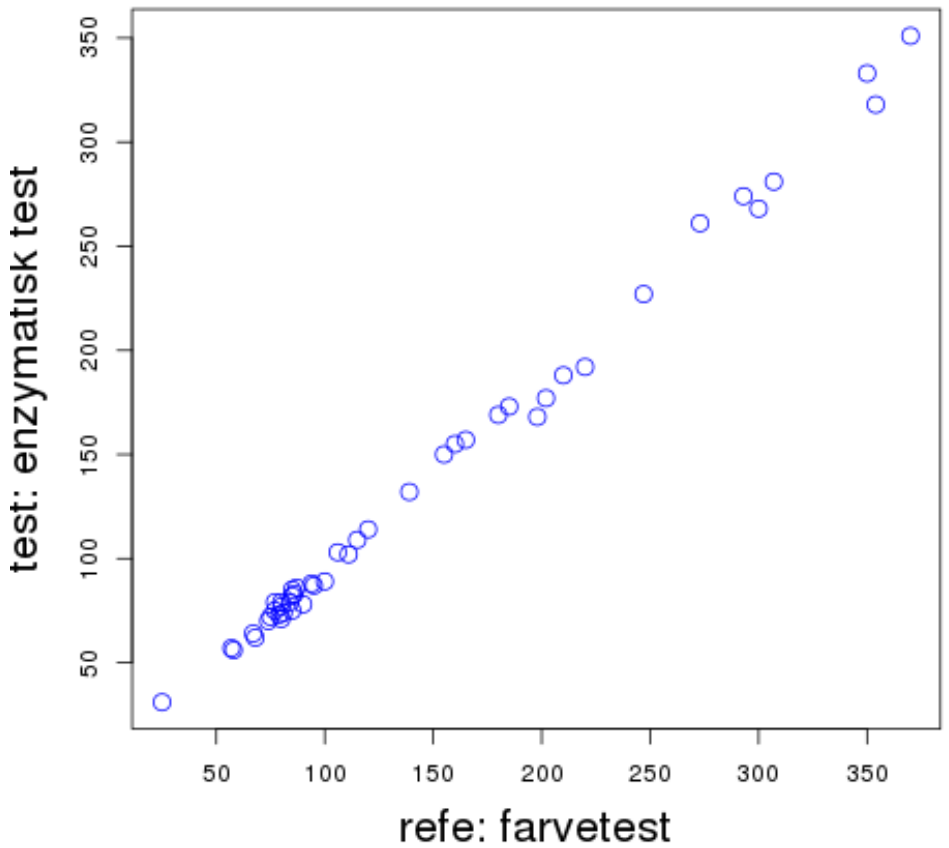
Ref: R.G. Miller et.al. (eds): Biostatistics Casebook. Wiley, 1980

REFE:
Farvetest, der kan 'forurenes' af urinsyre

TEST:
Enzymatisk test, mere specifikt for glucose.

nr.	*REFE*	*TEST*
1	155	150
2	160	155
3	180	169
.	.	.
.	.	.
.	.	.
44	94	88
45	111	102
46	210	188
$\bar{X}$	144.1	134.2
SD	91.0	83.2

Scatter plot af de to metoder



Det ser jo pænt ud...., eller?

Formål med undersøgelsen

kunne være:

- Kan vi erstatte en dårlig metode med en bedre metode?
- Kan vi erstatte en dyr metode med en billigere metode?
- Kan vi bruge de to metoder i flæng?

Under alle omstændigheder:
Hvor store forskelle kan vi forvente at finde mellem de to metoder

Og svaret er ikke:
Korrelationen er 0.99776.....

Parret sammenligning

Det er naturligt at se på differenser (`dif=refe-test`)

- Test om middelværdien kan være 0:
  Systematisk forskel? (denne side)
- Kvantificer individuelle differenser:
  Limits of agreement (næste side)

```
> t.test(refetest$dif)[c("p.value","conf.int")]
$p.value
[1] 1.366351e-08

$conf.int
[1]  7.009941 12.772667
```

Med en P-værdi < 0.0001 er der stærk indikation af forskel på de to metoder

Limits of agreement

På basis af en normalfordelingsantagelse på differenserne finder vi referenceintervallet (normalområdet):

```
> mean(refetest$dif) + c(-2,2)*sd(refetest$dif)
[1] -9.514208 29.296817
```

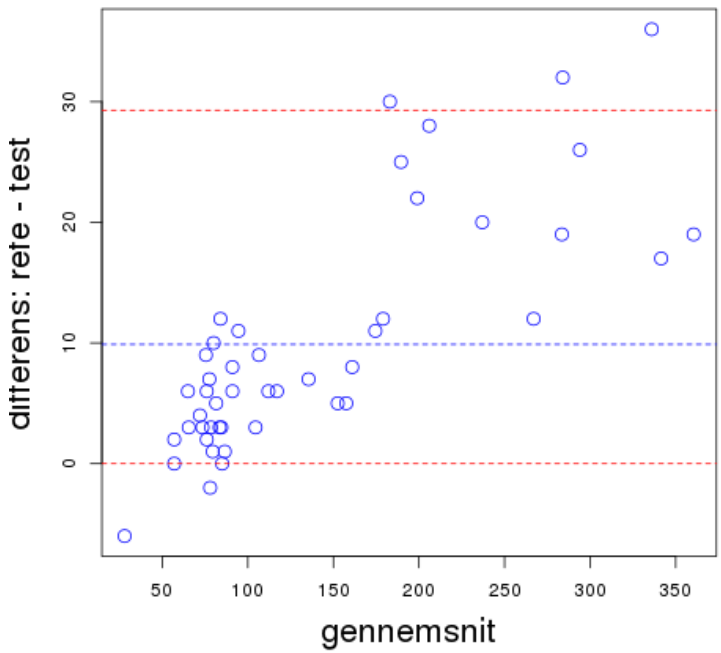
med fortolkningen:
"Når vi måler med begge metoder på samme person, vil differensen typisk ligge i intervallet (-9.5, 29.3)"

På tegningen ses, at dette er en **dårlig** beskrivelse, idet

- differenserne stiger med niveauet (repræsenteret ved gennemsnittet)
- variationen stiger også med niveauet

Bland-Altman plot

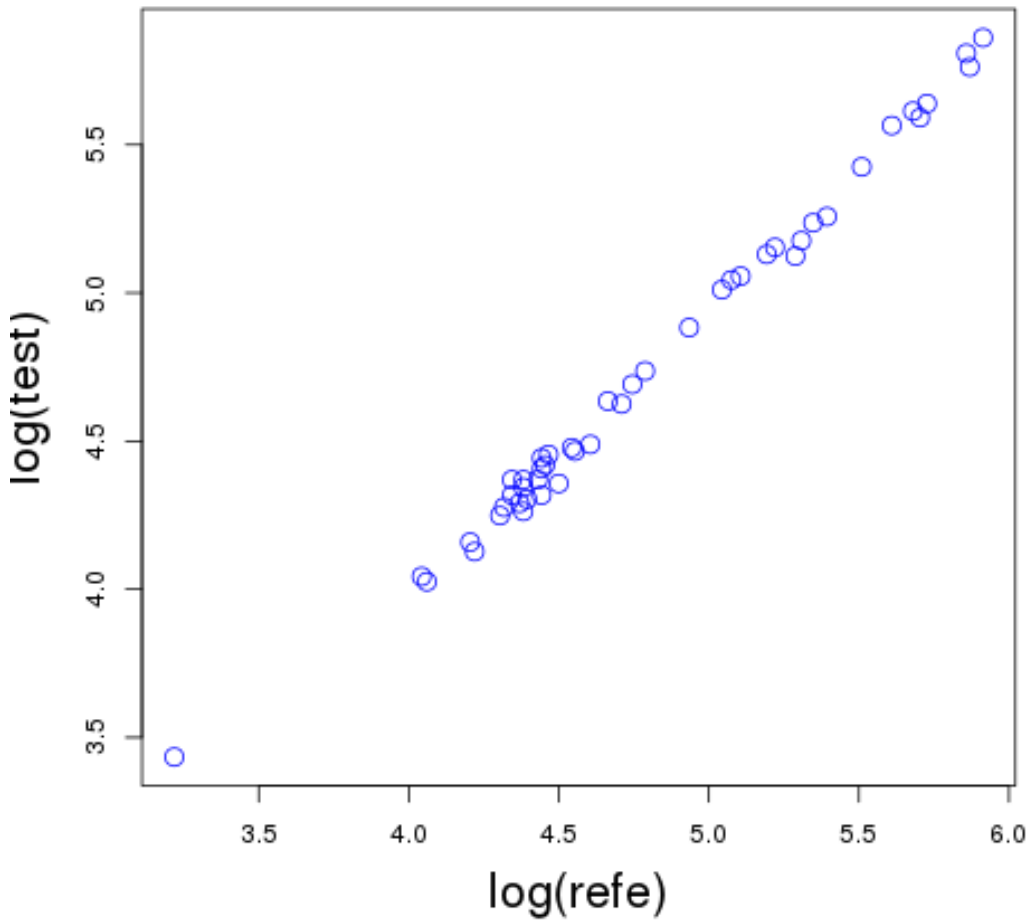
Plot af differenser mod gennemsnit (af de to målinger på samme person), se kode s. 82



Store afvigelser ved høje målinger, dvs. relative afvigelser
Så er det smart at se på **logaritmer**

Scatter plot

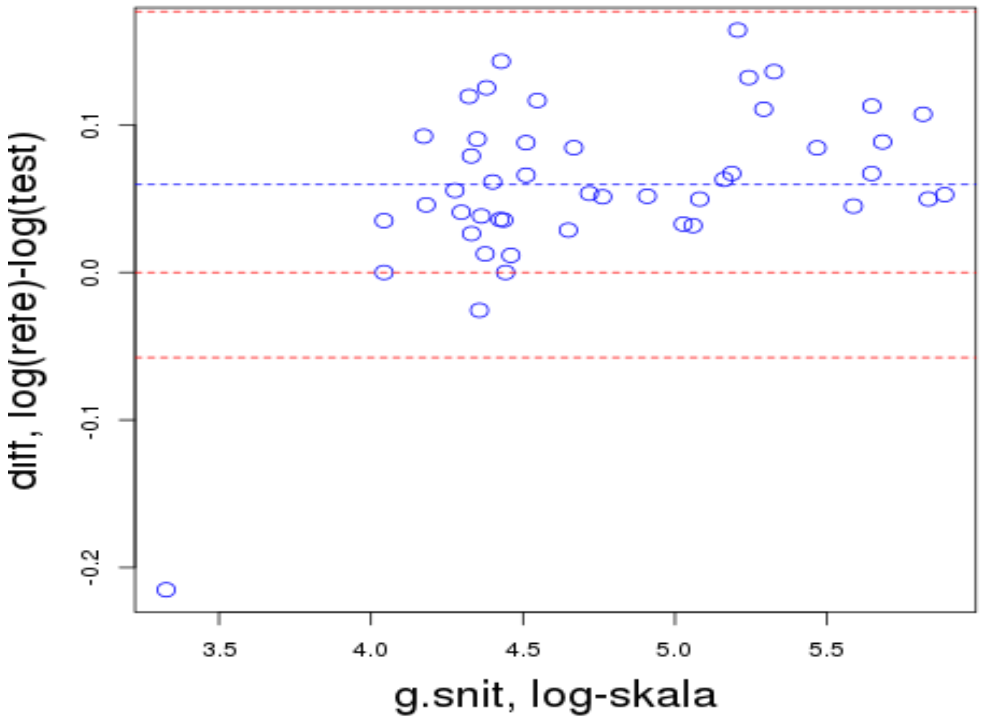
efter logaritmetransformation (her "den naturlige")



Bemærk

- Det er de **oprindelige målinger**, der skal logaritmetransformeres, *ikke* differenserne!
- Det er ligegyldigt, hvilken logaritmefunktion, der vælges (der er proportionalitet mellem alle logaritmer)
- Efter logaritmering gentages proceduren med differenser og konstruktion af limits of agreement

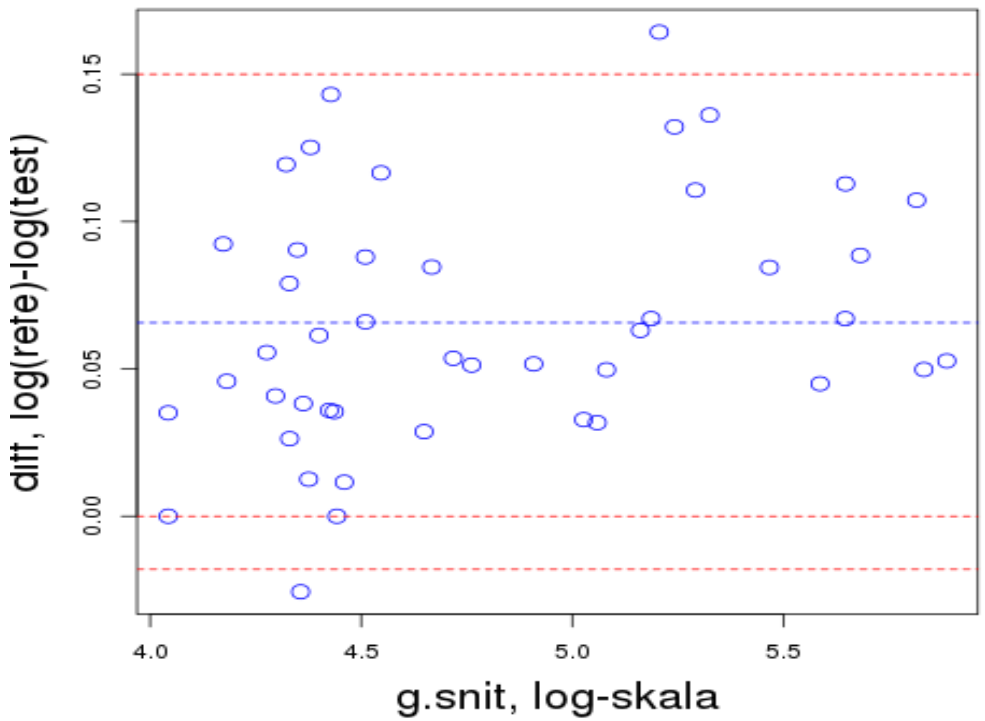
Bland-Altman plot for logaritmer



Der er en tydelig *outlier* (den mindste observation, nr. 31)

Vi udelader en outlier....nr. 31

og laver igen et Bland-Altman plot



som bliver acceptabelt....

En slags konklusion

```
> c(mean(refetest$ldif[-31]),sd(refetest$ldif[-31]))
[1] 0.06572945 0.04195475

> mean(refetest$ldif[-31]) + c(-2,2)*sd(refetest$ldif[-31])
[1] -0.01818005  0.14963895
```

Limits of agreement på logaritmisk skala er altså:

$$0.066 \pm 2 \times 0.042 = (-0.018, 0.150)$$

Det betyder, at der i 95% af tilfældene vil gælde

$$-0.018 < \log(\text{REFE}) - \log(\text{TEST}) = \log(\frac{\text{REFE}}{\text{TEST}}) < 0.150$$

Men hvad kan vi bruge det til?

Konklusion på brugbar facon

Vi kan tilbagetransformere med anti-logaritmen (her er det eksponentialfunktionen `exp()`) og få

$$\exp(-0.018) = 0.982 < \frac{\text{REFE}}{\text{TEST}} < 1.162 = \exp(0.150)$$ eller 'omvendt'

$$0.861 < \frac{\text{TEST}}{\text{REFE}} < 1.018$$

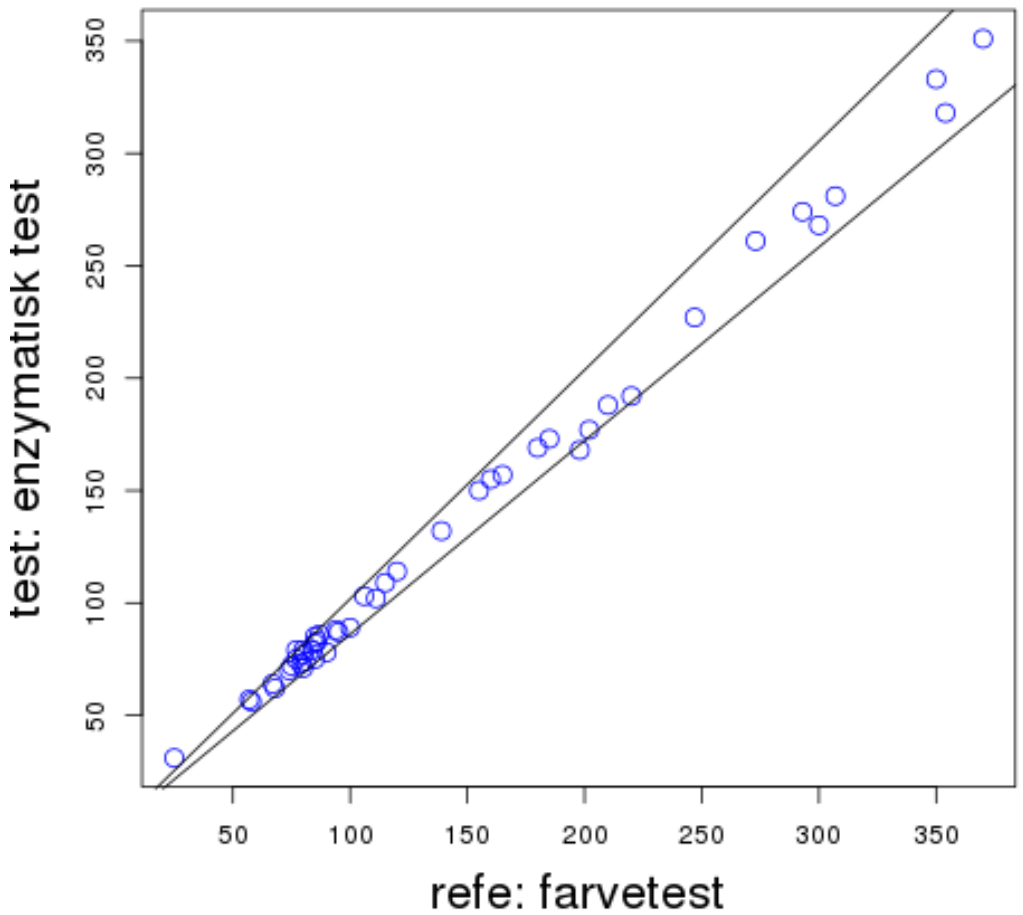
Det betyder:

TEST ligger typisk mellem

14% under og **2% over** REFE.

Limits of agreement

tilbagetransformeret til oprindelig skala



Regninger direkte på ratio-skala

Med definitionen ratio $= \frac{\text{refe}}{\text{test}}$ får vi:

```
> c(mean(refetest$ratio[-31]),sd(refetest$ratio[-31]))
[1] 1.06886072 0.04511841
> mean(refetest$ratio[-31]) + c(-2,2)*sd(refetest$ratio[-31])
[1] 0.9786239 1.1590975
```

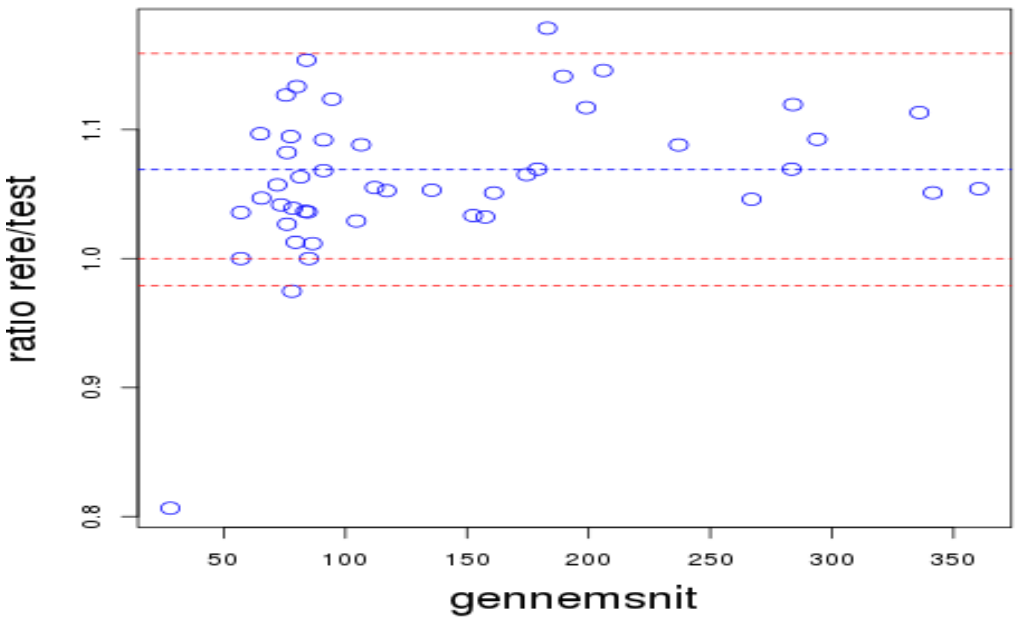
dvs. limits of agreement:

$$1.069 \pm 2 \times 0.045 = (0.979, 1.159)$$

altså `refe` fra 2% under til 16% over `test`,
på 2 decimaler identisk med resultatet for logaritmerne

Dette er ikke altid tilfældet!!

Limits of agreement på ratio-skala



som jo er næsten identisk med figuren s. 11 bortset fra skalaen på akserne.

Terminologi

for kvantitativt outcome, f.eks. vitamin D

Regressionsanalyse: Kovariaterne er også kvantitative

- Simpel (lineær) regression:
  kun en enkelt kovariat
- Multipel (lineær) regression:
  to eller flere kovariater

Variansanalyse: Kovariaterne er kategoriske (grupper)

- Ensidet variansanalyse: kun en enkelt kovariat
- Tosidet variansanalyse: to kovariater

Generel lineær model: Begge typer kovariater i samme model

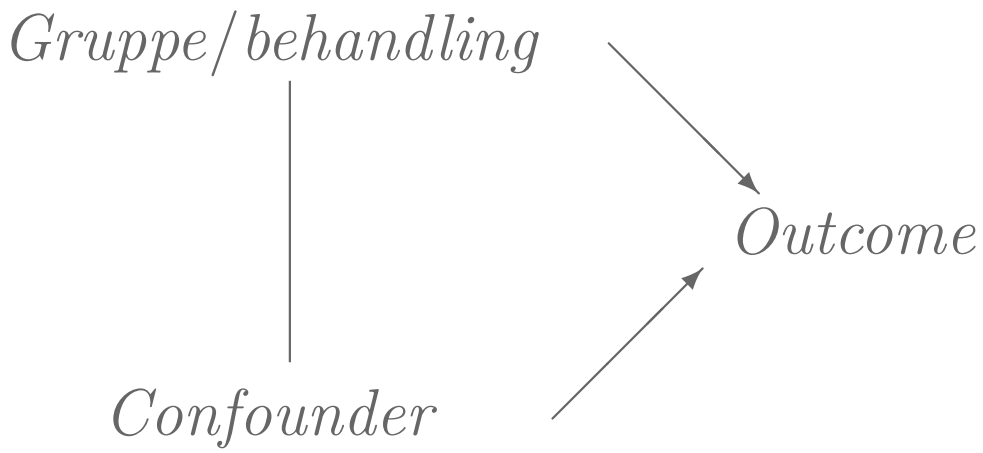
- Kovariansanalyse (ANCOVA):
  Netop en kvantitativ og en kategorisk kovariat

Sammenligning af to grupper

- som ikke er helt sammenlignelige, pga en confounder:
En variabel, som

- har en effekt på outcome
- er relateret til gruppen
  (dvs. der er forskel på værdierne i de to grupper)

Herved *kan* opstå **"bias"**.



Eksempel: Vægt blandt mænd og kvinder

Mulig confounder: Højde

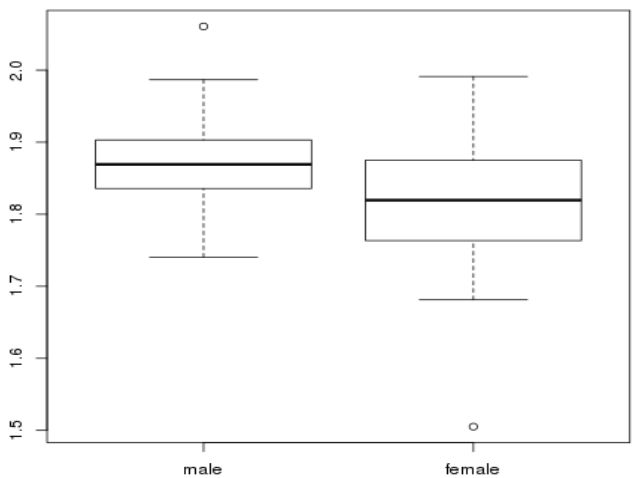
To forskellige sammenligninger:

- T-test:
  Er der forskel på middel vægt blandt mænd og kvinder?
- Kovariansanalyse:
  Er der forskel på middel vægt for mænd og kvinder,
  med samme højde?
  Kønseffekten *korrigeres* for forskel i højde:

To forskellige videnskabelige spørgsmål

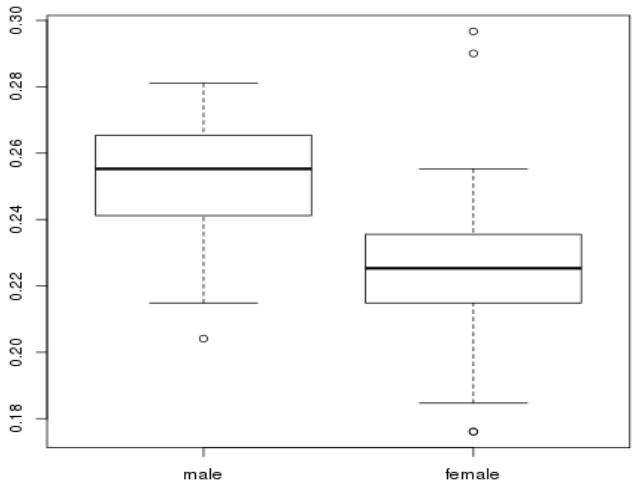
Vægtfordeling for mænd og kvinder

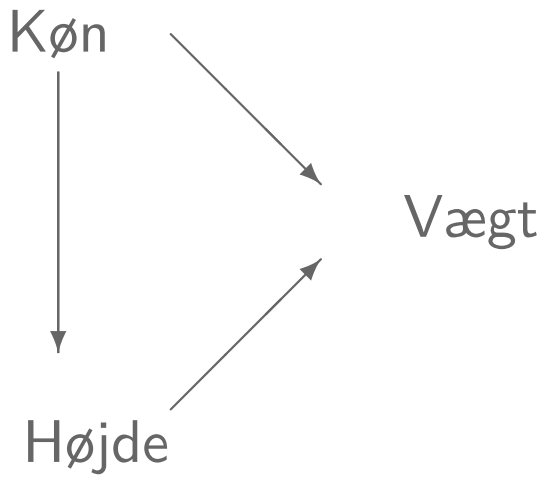
her for 100 tilfældigt udvalgte individer fra Sundby-materialet, på logaritmisk ($\log_{10}$-skala):



Et T-test giver P=0.0002, og en estimeret "*fordel*" til mænd på 14.5% (6.8-22.8%), se kode s. 83

Kan højden forklare forskellen på mænd og kvinder?

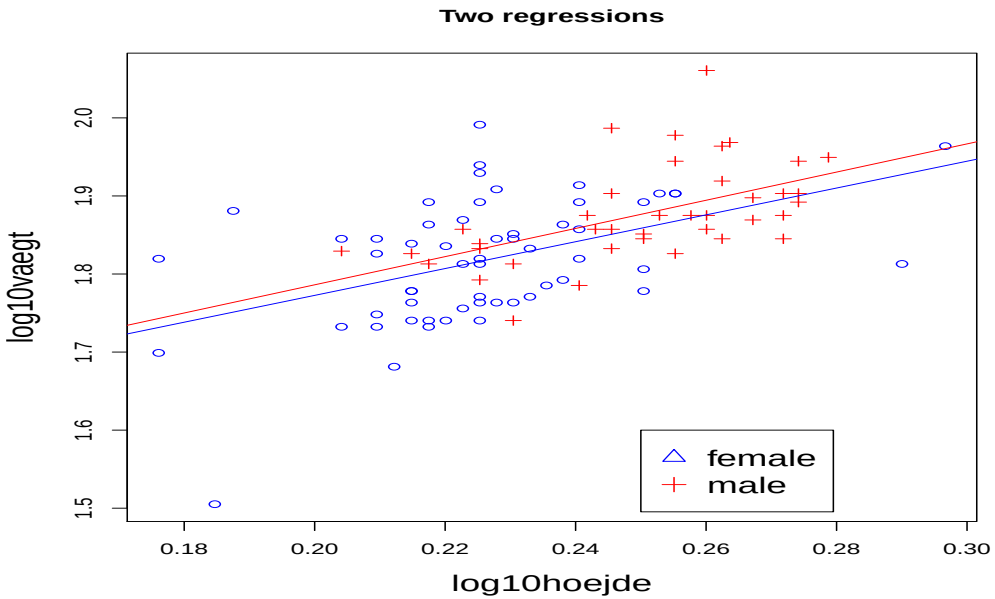




- Der er i hvert fald forskel på mænds og kvinders højde
- Men er der tillige en *ægte* kønseffekt?

Relation mellem højde og vægt

Igen på $\log_{10}$-skala, og med indlagte regressionslinier for hvert køn, se kode s. 84



Der er et par meget lave kvinder,
men ingen synderlige afvigelser fra linearitet...

Kovariansanalyse

Outcome: Vægt, logaritmeret (`log10vaegt`)

Kovariater: 2 stk:

- Køn (`gender`)
- Højde, logaritmeret (`log10hoejde`), med lineær effekt

```
ancova = lm(log10vaegt ~ log10hoejde + gender,
            na.action=na.exclude, data=su)
```

Output fra kovariansanalyse

Den vigtigste del:

```
> summary(ancova)

Call:
lm(formula = log10vaegt ~ log10hoejde + gender,
   data = su, na.action = na.exclude)

Coefficients:
             Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)   1.43930    0.08237  17.475  < 2e-16 ***
log10hoejde   1.74854    0.32638   5.357 6.09e-07 ***
genderfemale -0.01716    0.01571  -1.093    0.277

> 10^(cbind(-confint(ancova)[3,1],
+       -ancova$coefficients[3], -confint(ancova)[3,2]))
                 [,1]    [,2]      [,3]
genderfemale 1.117764 1.04031 0.9682231
```

Bemærk: Nu er kønseffekten helt forsvundet!

Højden kunne altså godt forklare den....måske

Fortolkning af kovariansanalysen

Vi fitter to parallelle linier (se s. 28) men både outcome og den kvantitative kovariat er logaritmeret.....

Fortolkning af kønseffekt:
På $\log_{10}$-skala ligger mænds vægt 0.01716 højere end kvinders. Når vi tilbagetransformerer dette, får vi $10^{0.01716} = 1.040$, svarende til, at mænd vejer ca. 4% mere end kvinder med samme højde.

Tilsvarende tilbagetransformeres konfidensintervallerne: $(10^{-0.0140245}, 10^{0.04835}) = (0.968, 1.118)$, dvs. det kan tænkes, at mænds vægt er hele 11.8% højere end kvinders med samme højde, men det kan også tænkes, at den faktisk er 3.2% lavere (svarende til at gange med faktoren 0.968).

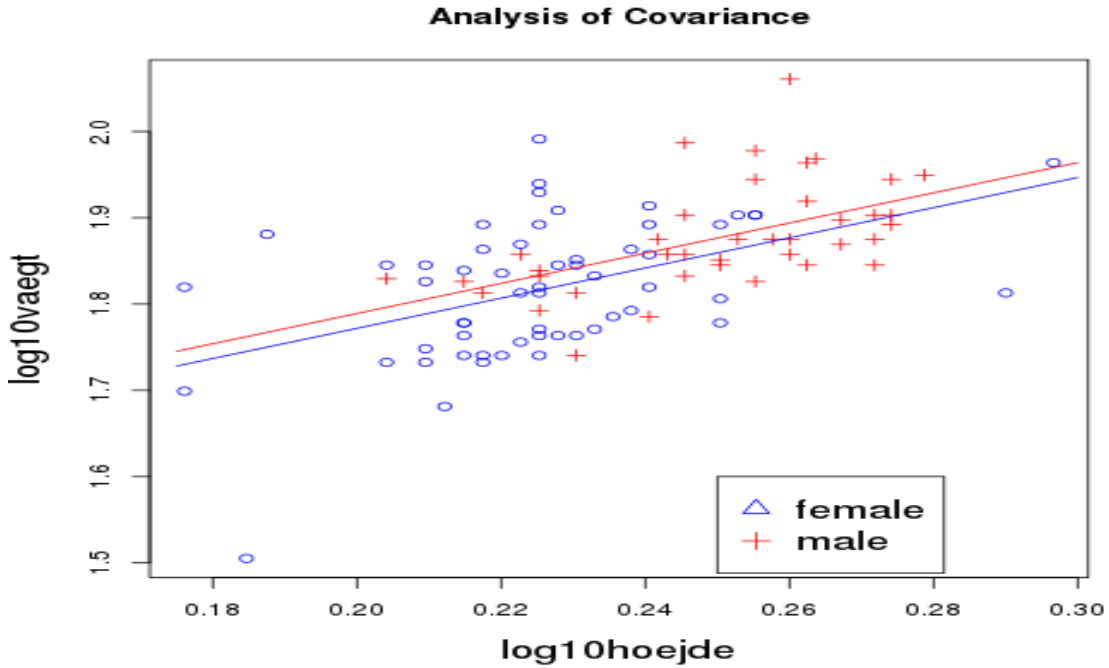
Fortolkning af kovariansanalysen, fortsat

Fortolkning af effekt af højde:
Højden på log-skala antages at have en lineær effekt på vægten på log-skala. Det betyder, at vi skal fortolke den tilbagetransformerede koefficient som *effekten af en 10-dobling af højden*, hvilket jo ikke er særligt interessant....

Når både outcome og kovariat er logaritmeret med samme logaritme, er det imidlertid ligegyldigt, hvad grundtallet for logaritmen er, da koefficienten altid vil blive den samme.
Vi kan derfor blot sige, at en 10% forøgelse af højden (svarende til faktoren 1.1) bevirker en faktor $1.1^{1.74854} = 1.181$ på vægten, altså en forøgelse af vægten med 18.1%.
Tilsvarende tilbagetransformeres konfidensintervallerne: $(1.1^{1.10043}, 1.1^{2.39666}) = (1.111, 1.257)$, dvs. mellem 11.1% og 25.7% mere i vægt.

Ancova-fit (parallelle linier)

Bemærk, at de parallelle linier er næsten sammenfaldende, svarende til den ringe kønseffekt.



Se kode s. 86

Estimation af kønseffekt

i 2 forskellige modeller, nemlig med og uden højde som kovariat

Outcome er `log10vaegt`:

Kovariater	Mænd vs. kvinder ratio (CI)	P-værdi
kun kønnet	1.14 (1.07, 1.23)	0.0002
køn og højde	1.04 (0.97, 1.12)	0.28

Den observerede forskel i ($\log_{10}$) vægt mellem mænd og kvinder *kan* altså evt. tilskrives højdeforskellen mellem kønnene.

Er der så en kønseffekt eller ej?

Ja for mænd og kvinder har jo ikke samme middel vægt

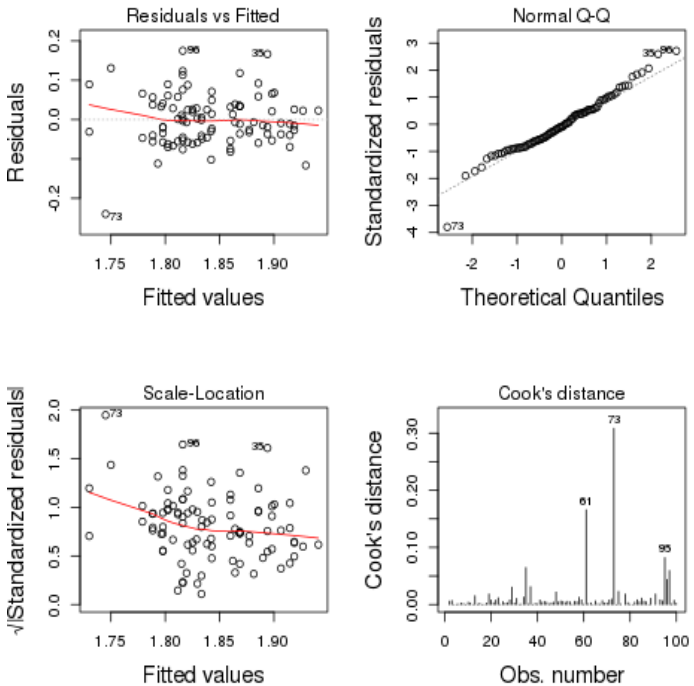
men forskellen i niveau kan forklares udfra den højdeforskel, der generelt er mellem mænd og kvinder

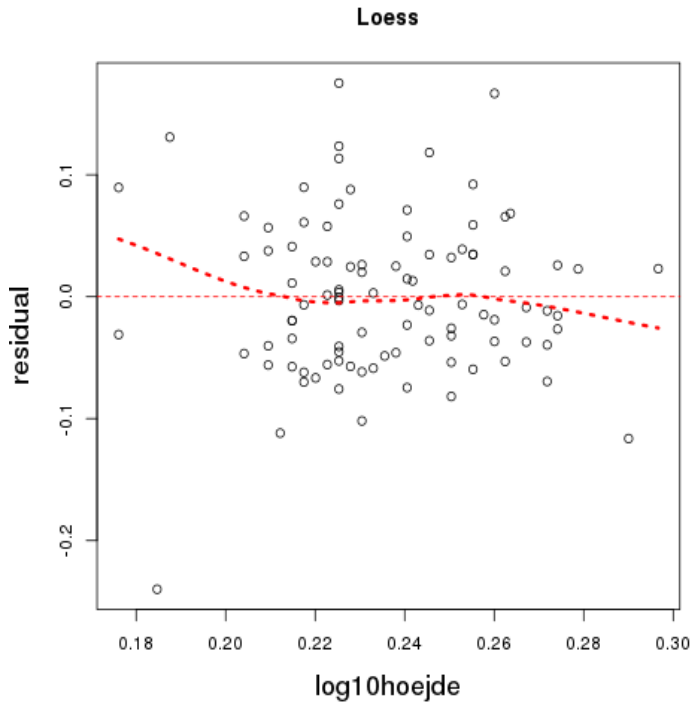
måske men vi kan ikke *påvise* forskel mellem en mand og en kvinde med samme højde

Højde er en mellemkommende (intermediate) variabel for effekten af køn på vægt

Husk modelkontrol:

Se kode s. 87





Additivitet – eller interaktion?

Kovariansanalyse: dækker sædvanligvis over situationen med to parallelle linier, altså med identiske hældninger, også kaldet additivitet
Her: Effekten af højde på vægt antages at være *den samme* for mænd og kvinder

Mere generel model tillader interaktion=vekselvirkning=effektmodifikation, altså *forskellige* hældninger. Det betyder:

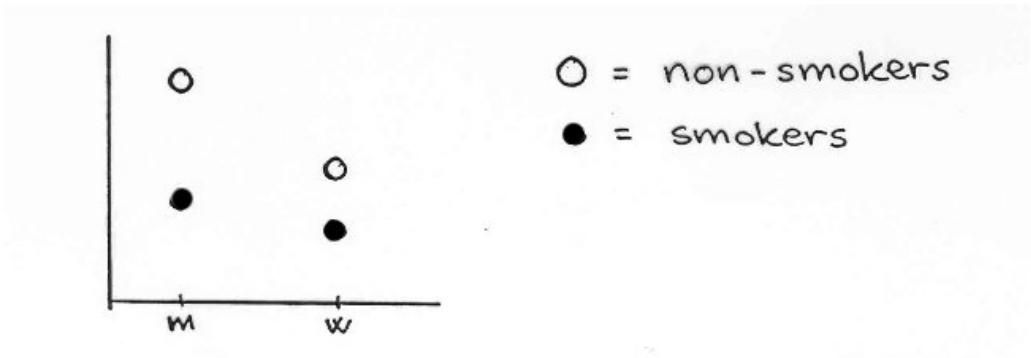
- Effekten af højde afhænger af kønnet
- Forskellen på kønnene afhænger af højden

I tilfælde af interaktion kan man **ikke** udtale sig om *én* generel effekt af hverken højde eller køn.

Vekselvirkning (interaktion)

Tænkt eksempel:

- To inddelingskriterier: køn og rygestatus
- Outcome: FEV_1



- Effekten af rygning afhænger af køn
- Forskellen på kønnene afhænger af rygestatus

Mulige forklaringer

- biologisk kønsforskel på effekt af rygning
  – holder vist ikke i praksis,
  men eksemplet er jo også blot 'tænkt'
- måske ryger kvinderne ikke helt så meget
  – antal pakkeår confounder for køn
- måske virker rygningen som en *relativ* (%-vis) nedsættelse af FEV_1
  – kunne undersøges ved en longitudinel undersøgelse

Eksempel: Rygnings effekt på fødselsvægt

Table 10.1 Average Birth Weight of Children Born to Women with Different Amount and Duration of Smoking[a]

Duration of smoking in pregnancy	Amount of smoking			
	Mild	Moderate	Heavy	All
–18 weeks	3.45 ($n = 15$)	3.42 ($n = 12$)	3.43 ($n = 7$)	3.44 ($n = 34$)
18–31 weeks	3.38 ($n = 8$)	3.40 ($n = 10$)	3.39 ($n = 6$)	3.39 ($n = 24$)
32+ weeks	3.35 ($n = 5$)	3.30 ($n = 3$)	3.18 ($n = 9$)	3.25 ($n = 17$)
All	3.41 ($n = 28$)	3.40 ($n = 25$)	3.32 ($n = 22$)	3.38 ($n = 75$)

[a] Entries are average birth weight in kg.

Figure 10.3 Interaction between duration and amount of smoking.

Interaktion/vekselvirkning
mellem mængden og varigheden af rygningen

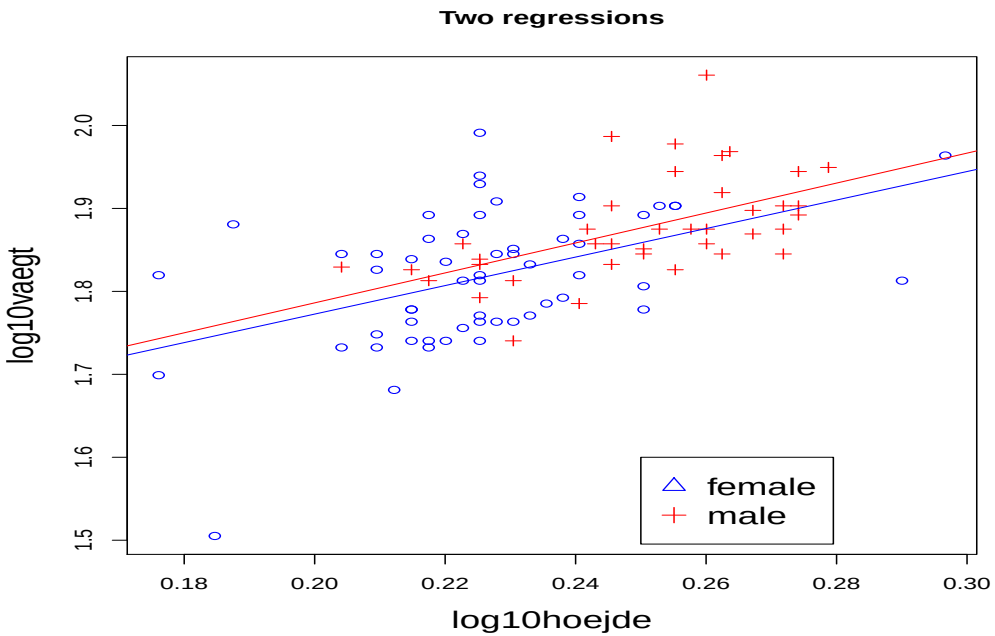
- Der er effekt af mængden, men kun hvis man har røget længe.
- Der er effekt af varigheden, og denne effekt øges med mængden.

Effekten af mængden **afhænger af**....

og effekten af varigheden **afhænger af**....

Model med interaktion

Nu er linierne ikke mere *tvunget* til at være parallelle, men de er det næsten alligevel...



Kode til figuren s. 84

Model med interaktion i praksis

Testvenlig kode:

```
interaktion = lm(log10vaegt ~ log10hoejde + gender +
      gender:log10hoejde,
      na.action=na.exclude, data=su)
```

Mere estimat-venlig kode:

```
interaktion1 = lm(log10vaegt ~ gender +
      gender:log10hoejde -1,
      na.action=na.exclude, data=su)
```

Output fra testvenlig model

Kode s. 38, foroven

```
> summary(interaktion)

Call:
lm(formula = log10vaegt ~ log10hoejde + gender + gender:log10hoejde,
    data = su, na.action = na.exclude)

Coefficients:
                          Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)               1.425146   0.140381  10.152  < 2e-16 ***
log10hoejde               1.805082   0.559213   3.228  0.00173 **
genderfemale              0.003698   0.167823   0.022  0.98247
log10hoejde:genderfemale -0.086223   0.690582  -0.125  0.90091

> confint(interaktion)
                              2.5 %    97.5 %
(Intercept)               1.1463374 1.7039541
log10hoejde               0.6944371 2.9157269
genderfemale             -0.3296129 0.3370087
log10hoejde:genderfemale -1.4577795 1.2853334
```

Interaktionsparameteren angiver

forskellen på hældninger i de to grupper

Fortolkning af interaktionsmodel

Vi har fittet to *vilkårlige linier* (se s. 37) men stadig med logaritmeret outcome og kovariat.....

Fortolkning af kønseffekt:
Da linierne ikke er parallelle, er der ikke mere noget, der hedder kønseffekt**en**, da afstanden mellem linierne på s. 37 varierer en smule

Det angivne estimat for `gender` angiver forskellen på mænd og kvinder med `log10hoejde`=0, dvs. en højde på 1 meter, altså *overhovedet ikke interessant*.

Fortolkning af interaktionsmodel, fortsat

Fortolkning af effekt af højde:

Nu er der *to forskellige effekter af højde*, svarende til de to køn. De fortolkes ligesom s. 27, idet koefficenten til `log10hoejde` angiver effekten for referencegruppen for `gender` (altså mænd), medens koefficienten svarende til `log10hoejde:genderfemale` angiver *forskellen* mellem effekten for kvinder og effekten for mænd.

Vi omregner disse estimater på s. 42, men se estimationsvenlig kode s. 38 (nederst) og output fra denne s. 43

Omregning til de to linier:

Linie for mænd:

$$\text{log10(vægt)} = 1.4251 + 1.8051 \times \text{log10(højde)}$$

Linie for kvinder:

$$\begin{aligned} & \text{log10(vægt)} \\ = \; & 1.4251 + 0.0037 + (1.8051 - 0.0862) \times \text{log10(højde)} \\ = \; & 1.4288 + 1.7189 \times \text{log10(højde)} \end{aligned}$$

Men så får vi ikke nogen konfidensgrænser....
så man bør benytte programmet til udregningerne,
se kode nederst s. 38

Output fra estimationsvenlig kode

Kode s. 38 (nederst)

```
> summary(interaktion1)

Call:
lm(formula = log10vaegt ~ gender + gender:log10hoejde - 1, data = su,
    na.action = na.exclude)

Residuals:
      Min        1Q    Median        3Q       Max
-0.241152 -0.045355 -0.005657  0.035528  0.175107

Coefficients:
                         Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
gendermale                1.42515    0.14038  10.152  < 2e-16 ***
genderfemale              1.42884    0.09197  15.537  < 2e-16 ***
gendermale:log10hoejde    1.80508    0.55921   3.228  0.00173 **
genderfemale:log10hoejde  1.71886    0.40520   4.242 5.27e-05 ***


> confint(interaktion1)
                              2.5 %   97.5 %
gendermale                1.1463374 1.703954
genderfemale              1.2461910 1.611496
gendermale:log10hoejde    0.6944371 2.915727
genderfemale:log10hoejde  0.9141012 2.523617
```

* Fortolkning af interaktionsmodel, fortsat

Vi har nu direkte estimater for de to linier (se s. 42-43) og skal tilbagetransformere til relationen

$$\text{vægt} = 10^{\alpha} \times \text{højde}^{\beta}$$

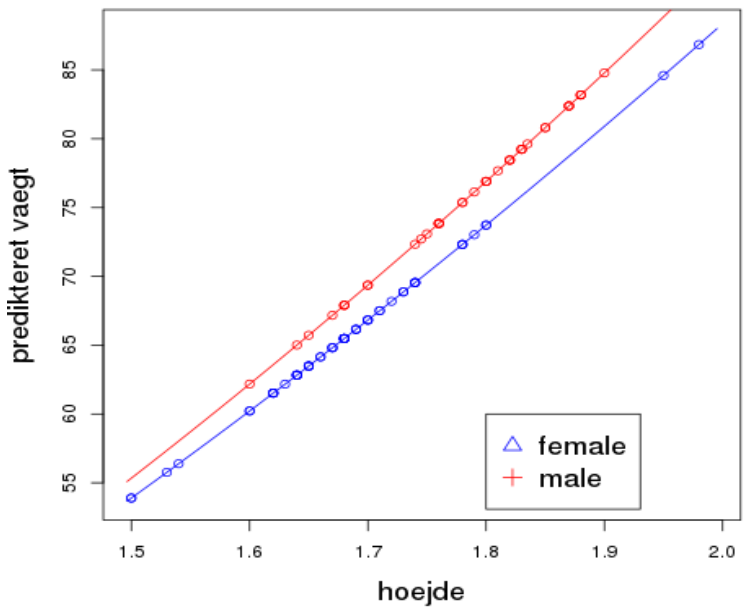
for hvert køn for sig. Vi finder:

- For mænd:
  $\text{vægt} = 10^{1.4251} \times \text{højde}^{1.8051} = 26.61\text{højde}^{1.8051}$
- For kvinder:
  $\text{vægt} = 10^{1.4288} \times \text{højde}^{1.7189} = 26.84\text{højde}^{1.7189}$

Disse *kurver* (ikke linier) er vist på s. 45.
Bemærk dog, at de ikke afviger ret meget fra linier....

Estimerede relationer i interaktionsmodellen

Da der er tale om linier på dobbeltlogaritmisk skala, er der ved tilbagetransformation tale om krumme kurver (dog ikke særligt krumme...). Se kode s. 88



Bemærk

Da der absolut ikke kunne spores nogen interaktion i dette eksempel, går vi tilbage til den additive model, *kovariansanalysen*, fra s. 24. I **dette** eksempel så vi

- Den observerede forskel i $(\log_{10})$ vægt mellem mænd og kvinder kunne godt tilskrives højdeforskellen mellem kønnene.

  Der **kan** dog stadig være en kønsforskel op til ca. 12% øget vægt hos mænd i forhold til en kvinde på samme højde (se s. 29).

- Det *omvendte* kan også forekommer, altså at effekter dukker op, når der kontrolleres for andre

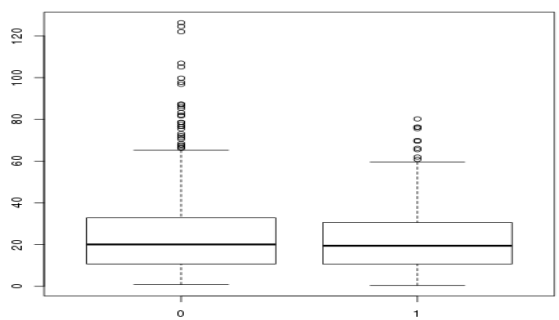
  Sådan et eksempel skal vi se nu

Nyt eksempel: Hormoner hos P-pille brugere

Anti Müllersk Hormon (AMH) er et hormon, som dannes i de små tidlige ægblærer (follikler) i æggestokkene.

Videnskabeligt spørgsmål:
Er AMH-niveauet nedsat hos P-pille brugere?
Og i givet fald hvor meget?

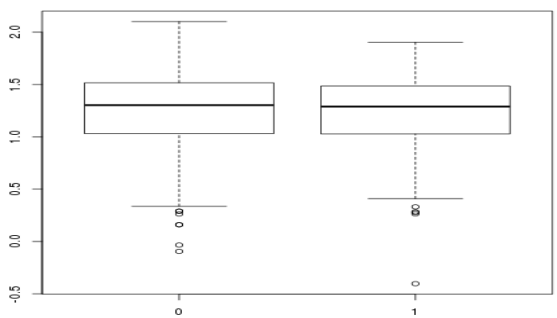
Der foreligger en undersøgelse af 732 kvinder, heraf 228, der tager P-piller



Valg af skala

- Boxplottet på forrige side viser klart en tendens til hale mod høje værdier
- Man får derfor en ide om, at logaritmer vil være påkrævet
- På den anden side er der mange observationer i hver gruppe, så det er muligvis ikke strengt nødvendigt....

Boxplot af logaritmetransformerede ($\log_{10}$) AMH-værdier



Heller ikke på denne skala er der perfekt symmetri

Valg af skala

er ikke altid oplagt....

Man kan lade det afhænge af, hvordan man helst vil præsentere sit resultat:

- som en forskel i enheden antal/ml, eller
- som en relativ forskel, i %

Hvis man vælger andre skalaer (kvadratrødder, kubikrødder etc.) kan parametrene i modellen ikke direkte fortolkes (forskellene kan ikke kvantificeres på en enkel måde).

Sammenligning af grupper - på logaritmisk skala

Uparret T-test giver:

```
> t.test(pill$logamh ~ pill$ppiller)

Welch Two Sample t-test

data:  pill$logamh by pill$ppiller
t = 0.86861, df = 441.56, p-value = 0.3855
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.03181567  0.08221097
sample estimates:
mean in group 0 mean in group 1
       1.264578        1.239381

> var.test(pill$logamh ~ pill$ppiller)

F test to compare two variances

data:  pill$logamh by pill$ppiller
F = 1.0162, num df = 503, denom df = 227, p-value = 0.8987
alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
95 percent confidence interval:
 0.8099674 1.2628745
sample estimates:
ratio of variances
          1.016165
```

Kommentarer til output

- Der er ikke tegn på forskellige varianser i de to grupper (`var.test`: P=0.90)
- Det er derfor ligegyldigt, hvilket T-test, vi vælger at se på (de giver i øvrigt også næsten præcis det samme)
- R giver dog kun Welch-testet, med mindre man specificerer `var.equal=TRUE`
- P-værdien er 0.39, altså ingen evidens for forskel i AMH blandt brugere og ikke-brugere af P-piller
- R giver *ikke* selve differensen:
  Ikke-P-piller vs. P-piller: $1.2646 - 1.2394 = 0.0252$

Kommentarer til output,II

Måske er det mere naturligt at udregne det *den anden vej*, altså P-pille brugere i forhold til ikke P-pille brugere, og så skal vi skifte fortegn:

$$10^{-0.0252} = 0.94, \quad \text{CI} = (10^{-0.0823}, 10^{0.0319}) = (0.83, 1.08)$$

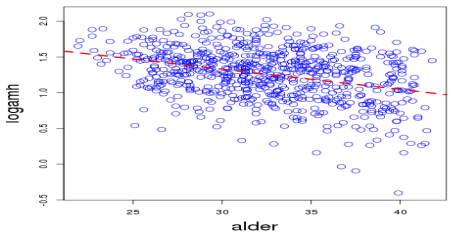
Her læser vi, at P-pille brugere i gennemsnit har et ca. 6% reduceret niveau af AMH, men at konfidensintervallet strækker sig fra en reduktion på ca. 17% til et forøget niveau på omkring 8%.

Det lyder som en ret betydelig potentiel forskel i mine ører.... men altså ikke signifikant

Kan der være en confounder? Alder?

Er alder en confounder?

- Har den en effekt på hormon-niveauet?
  Det skulle man tro, ud fra vores viden om, hvad hormonet afspejler



- Er der forskellig alder i de to grupper?
  Formentlig er P-pille brugerne yngre end ikke-P-pille brugerne

```
> tapply(pill$alder, pill$ppiller, summary)
$`0`
   Min. 1st Qu.  Median    Mean 3rd Qu.    Max.
  21.90   30.90   33.70   33.72   36.90   41.80

$`1`
   Min. 1st Qu.  Median    Mean 3rd Qu.    Max.
  22.00   26.90   29.20   30.02   32.60   40.70
```

Alder *er* en confounder!

Kovariansanalyse - justering for aldersforskel

Nu sammenligner vi kvinder, der tager P-piller med kvinder, der *ikke* tager P-piller, men som har samme alder:

```
> ancova = lm(logamh ~ alder + factor(ppiller),
+   na.action=na.exclude, data=pill)
> summary(ancova)

Call:
lm(formula = logamh ~ alder + factor(ppiller),
    data = pill, na.action = na.exclude)

Coefficients:
                  Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)       2.434239   0.104927  23.199  < 2e-16 ***
alder            -0.034684   0.003079 -11.263  < 2e-16 ***
factor(ppiller)1 -0.153784   0.029197  -5.267 1.83e-07 ***
```

```
> confint(ancova)
                      2.5 %      97.5 %
(Intercept)       2.22824403  2.64023483
alder            -0.04072937 -0.02863812
factor(ppiller)1 -0.21110449 -0.09646268
```

```
> 10^(confint(ancova))
                        2.5 %      97.5 %
(Intercept)       169.1391073 436.7519270
alder               0.9104805   0.9361854
factor(ppiller)1    0.6150289   0.8008244
```

Kommentarer til kovariansanalyse

Kvinder, der tager P-piller estimeres til et 0.1538 lavere niveau end kvinder, der ikke tager P-piller, med CI=(0.0965, 0.2111).

Når vi tilbagetransformerer til selve koncentrationsskalaen, giver det en estimeret ratio $10^{-0.1538} = 0.70$, med konfidensinterval $(10^{-0.2111}, 10^{-0.0965}) = (0.62, 0.80)$

Dette skal fortolkes som, at P-pille brugere ligger 30% lavere end ikke-P-pille brugerne, med konfidensinterval fra 20% til 38% under.

Og forskellen er stærkt signifikant ($P < 0.0001$)

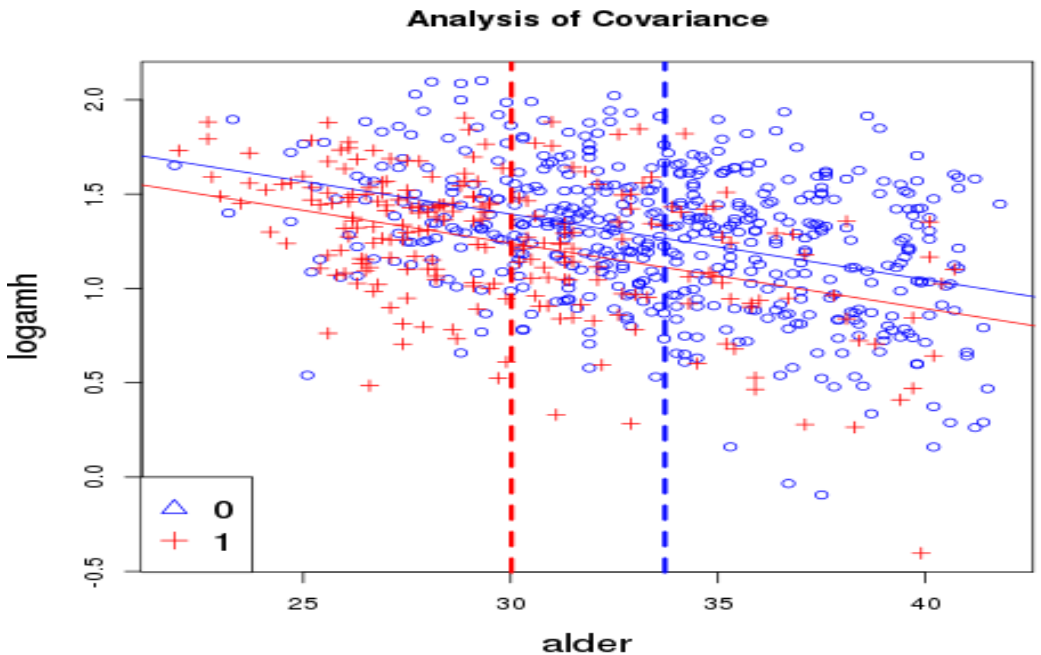
Kommentarer til de to analyser

Vi sammenfatter i en tabel:

Model	Reduktion i AMH: P-pille brugere vs. ikke P-pille brugere	P-værdi
T-test (s. 50-52)	-6% (-17%, +8%)	0.39
Kovariansanalyse (s. 54-55)	-30% (-38%, -20%)	$<$0.0001

Kovariansanalyse modellen grafisk

med fortolkning næste side



Men kan der tænkes at være interaktion?

Fortolkning af figur s. 57

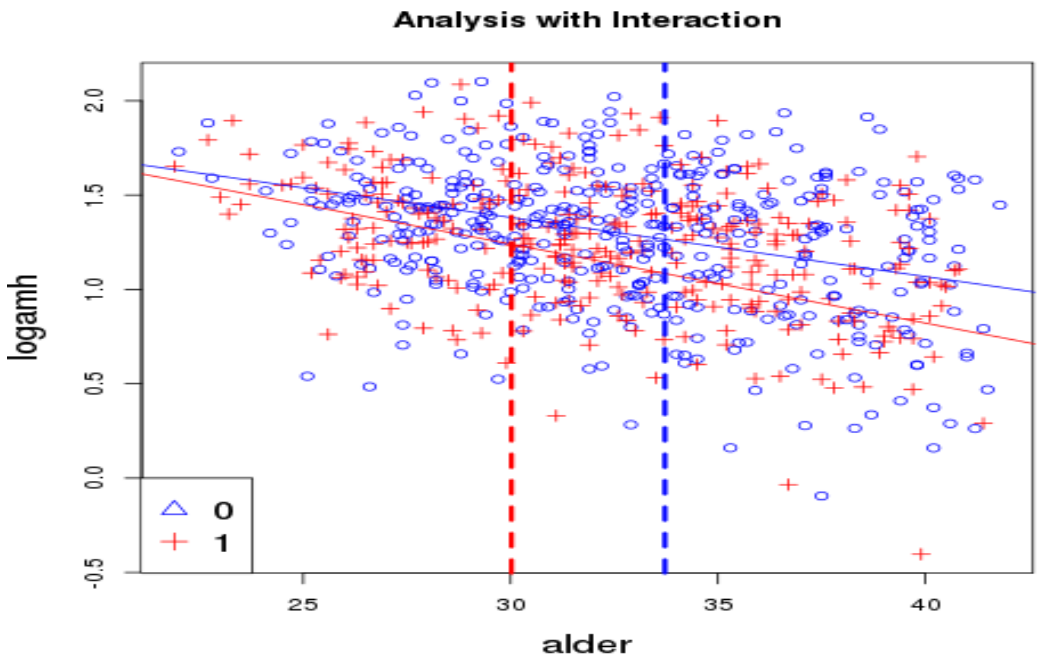
- Kovariansanalysen svarer til de to parallelle regressionslinier
- Den lodrette afstand imellem disse svarer til effekten af P-piller i kovariansanalysen s. 54-55
- De to lodrette linier er anbragt i aldersgennemsnittene:

  Rød P-pille brugere
  Blå Ikke-P-pille brugere

  Disse linier ses at skære regressionslinierne i *nogenlunde* samme højde (dvs. værdi af `logamh`), og ca. svarende til det insignifikante T-test s. 50-52

Figur med *frie* regressionslinier

svarende til *mulig interaktion*



Er de to linier ikke-parallelle?

Fortolkning af figur s. 59

- Interaktionsmodellen svarer til de to *ikke*-parallelle regressionslinier
- Den lodrette afstand imellem disse varierer nu med alderen, så man ikke mere kan tale om en *generel* effekt af P-piller
- De to lodrette linier skærer nu regressionslinierne i *præcis* de gennemsnitlige værdier af `logamh`, svarende til det insignifikante T-test s. 50-52

Er effekten af alder forskellig i de to grupper?

Regression for hver gruppe for sig (kode s. 91)

```
> pill.0 <- subset(pill, ppiller==0,)
>
> reg.0 = lm(logamh ~ alder, na.action=na.exclude, data=pill.0)

> cbind(confint(reg.0)["alder",1],
+       reg.0$coefficients["alder"], confint(reg.0)["alder",2])
             [,1]        [,2]        [,3]
alder -0.03879627 -0.03131774 -0.02383922

------------------------------------------------------------------

> pill.1 <- subset(pill, ppiller==1,)
> reg.1 = lm(logamh ~ alder, na.action=na.exclude, data=pill.1)
> cbind(confint(reg.1)["alder",1],
+       reg.1$coefficients["alder"], confint(reg.1)["alder",2])
             [,1]        [,2]        [,3]
alder -0.05207592 -0.04186509 -0.03165426
```

Konfidensintervallerne for alderseffekterne er noget overlappende,
så vi kan ikke umiddelbart udtale os om,
hvorvidt de er signifikant forskellige.

Interaktion mellem P-piller og alder?

De to analyser s. 61 viser, at effekten af 5 år (5 gange hældningen) kan opsummeres som i nedenstående tabel, der også tilbagetransformerer effekten til original skala:

Gruppe	Effekt af 5 år på $\log_{10}$-skala	Tilbagetransformeret effekt
Ikke P-pille brugere	-0.1566 (-0.1940, -0.1192)	0.70 (0.64, 0.76)
P-pille brugere	-0.2093 (-0.2604, -0.1583)	0.62 (0.55, 0.69)

Fortolkningen er, at for P-pille brugere falder AMH-niveauet med 38% på 5 år (faktoren 0.62), medens der for ikke P-pille brugere kun er tale om et fald på 30% (faktoren 0.7).

Interaktion mellem P-piller og alder, II

Er der evidens for reelle forskelle i alderseffekten i de to grupper?

For at undersøge dette, skal vi først gøre os klart, at spørgsmålet går på, om de to hældninger ovenfor er signfikant forskellige, altså om alderseffekten afhænger af, om man er P-pille bruger eller ej.

```
> interaktion = lm(logamh ~ alder + ppiller + ppiller:alder,
+   na.action=na.exclude, data=pill)
> summary(interaktion)

Call:
lm(formula = logamh ~ alder + ppiller + ppiller:alder, data = pill,
    na.action = na.exclude)

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    2.320726   0.126612  18.329  < 2e-16 ***
alder         -0.031318   0.003728  -8.401 2.32e-16 ***
ppiller        0.175287   0.207947   0.843     0.40
alder:ppiller -0.010547   0.006599  -1.598     0.11
---
> confint(interaktion)
                    2.5 %       97.5 %
(Intercept)    2.07215815  2.569293108
alder         -0.03863669 -0.023998801
ppiller       -0.23295989  0.583534066
alder:ppiller -0.02350310  0.002408406
```

Kommentarer til output vedr. interaktion

- Testet for ens hældninger aflæses på linien `alder:ppiller`, og P-værdien ses at være 0.11, altså ingen signifikans.

  I hvert fald ikke, hvis vi holder os til et 5% signifikansniveau.

- Vi kan således ikke i dette materiale påvise en forskel i alderseffekt for de to grupper, omend der synes at være tendens til en større effekt i P-pille gruppen.

Der *kunne* således være en forskel i hældninger på op imod $0.0105 + 2 \times 0.0066 = 0.0237$ svarende til, at P-pille brugere på 5 år havde et ekstra tab på 24% (fordi $10^{-5*0.0237} = 0.76$)

Kvantificering i tilfælde af interaktion

Her finder vi ingen signifikant interaktion mellem alder og indtagelse af P-piller, men dette *udelukker* jo ikke, at der kan være interaktion.

Og hvordan kvantificerer man så effekten af P-piller i tilfælde af interaktion?

- Man kan kvantificere effekten for udvalgte aldre, f.eks. 25, 30, 35 og 40, eller for en lang række aldre ved at inkludere disse i et nyt datasæt, som man så predikterer for, se s. 66
- eller ved at ændre Y-aksens placering ved at flytte nulpunktet, så effekten kvantificeres som forskellen i intercepter

Selve niveauerne kan kvantificeres for en lang række aldre ved at prediktere fra et datasæt uden AMH-værdier, se s. 93

Kvantificering for mange forskellige aldre

```
> e.P25=confint(summary(glht(interaktion, linfct=rbind(c(0,0,1,25)))))
> e.P30=confint(summary(glht(interaktion, linfct=rbind(c(0,0,1,30)))))
> e.P35=confint(summary(glht(interaktion, linfct=rbind(c(0,0,1,35)))))
> e.P40=confint(summary(glht(interaktion, linfct=rbind(c(0,0,1,40)))))
```

som giver

```
> e.P25$confint
     Estimate        lwr        upr
1 -0.08839662 -0.1870355 0.01024224

> e.P30$confint
    Estimate        lwr         upr
1 -0.1411334 -0.2004643 -0.08180239

> e.P35$confint
    Estimate        lwr      upr
1 -0.1938701 -0.2693902 -0.11835

> e.P40$confint
    Estimate       lwr        upr
1 -0.2466068 -0.374196 -0.1190177
```

som så skal tilbagetransformeres.....

Metoder til at undgå bias (her pga alder)

Matchning. Dvs. udvælge individer, således at de er nogenlunde ens med hensyn til de vigtige *forstyrrende* kovariater.
Husk at tage matchningsvariablen med som kovariat

Randomisering. Dvs. trække lod om behandling (gruppe)
NB: Dette kan naturligvis *kun* lade sig gøre, hvis grupperne er noget, man selv bestemmer over.
og det sikrer ikke helt identiske fordelinger i den enkelte undersøgelse

Korrektion Dvs. at medtage den (muligvis skævt fordelte) variabel som kovariat, også somme tider i randomiserede undersøgelser

Matching / randomisering / korrektion

- Matching:
  - god metode, når den ene gruppe er vanskelig at få tag i
  - kan være ret besværligt og kan reducere antallet af observationer
  - skævvrider udtrykket for populationen som helhed
- Randomisering:
  - vældig god metode, når den er mulig og sample size er stor
  - vi kan ikke randomisere til P-piller ja/nej
- Korrektion:
  - er altid mulig, men problematisk hvis der er for stor forskel på grupperne
  - kan reducere residualvariationen (væsentligt)
  - sample size bestemmer hvor meget, det er muligt at korrigere for....

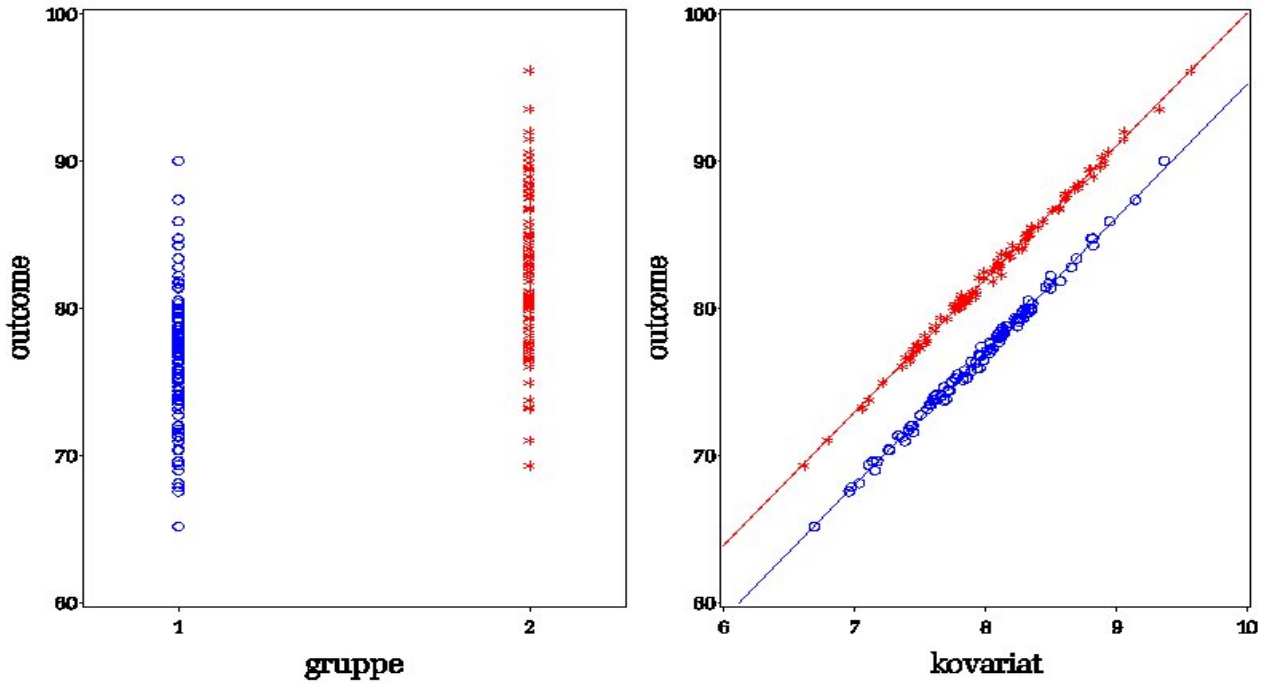
Metoder til at øge styrken

- inkludere flere observationer/personer
- benytte fornuftige inklusions- eller eksklusionskriterier
- inddrage vigtige forklarende variable (kovariater)
  også selv om de ikke er confoundere,
  se eksempel på en sådan næste side
- udelade irrelevante kovariater

Men pas på med at gå for meget på **fisketur!!**

og husk at fortolkningen afhænger af modellen

Simuleret eksempel



Uden x i modellen: Ingen særlig forskel på grupperne...?

Med x i modellen: Tydelig forskel på grupperne
(her den lodrette afstand mellem linierne)

Før-og-efter studie

Et typisk eksempel:
Vickers, A.J. & Altman, D.G.: Analysing controlled clinical trials with baseline and follow-up measurements.
British Medical Journal 2001; **323**: 1123-24.:

52 patienter med skuldersmerter randomiseres til enten

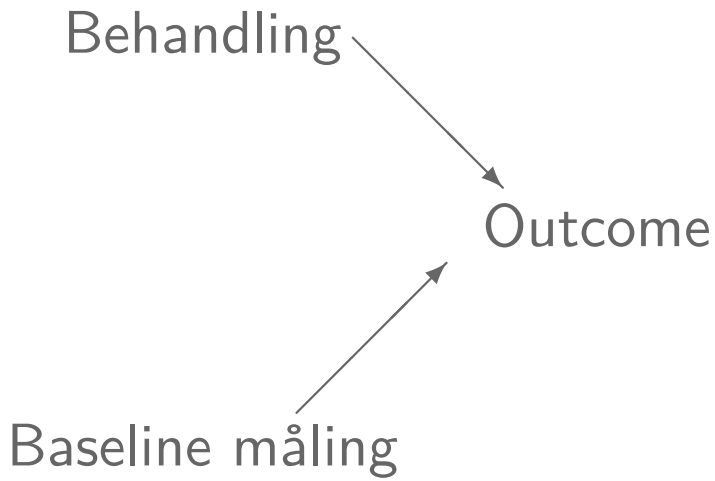
- Akupunktur (n=25)
- Placebo (n=27)

Smerte vurderes på en 100-trins skala
både før og efter behandling

Høje scorer er gode

Baseline og Follow-up

I princippet:



Der er fokus på sammenligning af behandlingerne:
Er placebo ligeså godt som akupunktur?

Det lægger op til et simpelt T-test, men:

Hvad nu, hvis de to grupper ikke er *helt* identiske fra start, selv om der er randomiseret?

Gentagne målinger over tid

– egentlig først emnet den sidste uge af kurset, men her er det simplere, fordi vi kun har 2 målinger pr. individ, så:

Vi kan se på ændringerne, men er dette fornuftigt?
Ikke altid, pga regression to the mean eller "reversion" towards the mean, som kan oversættes til
en tendens til at falde ind mod midten af en fordeling

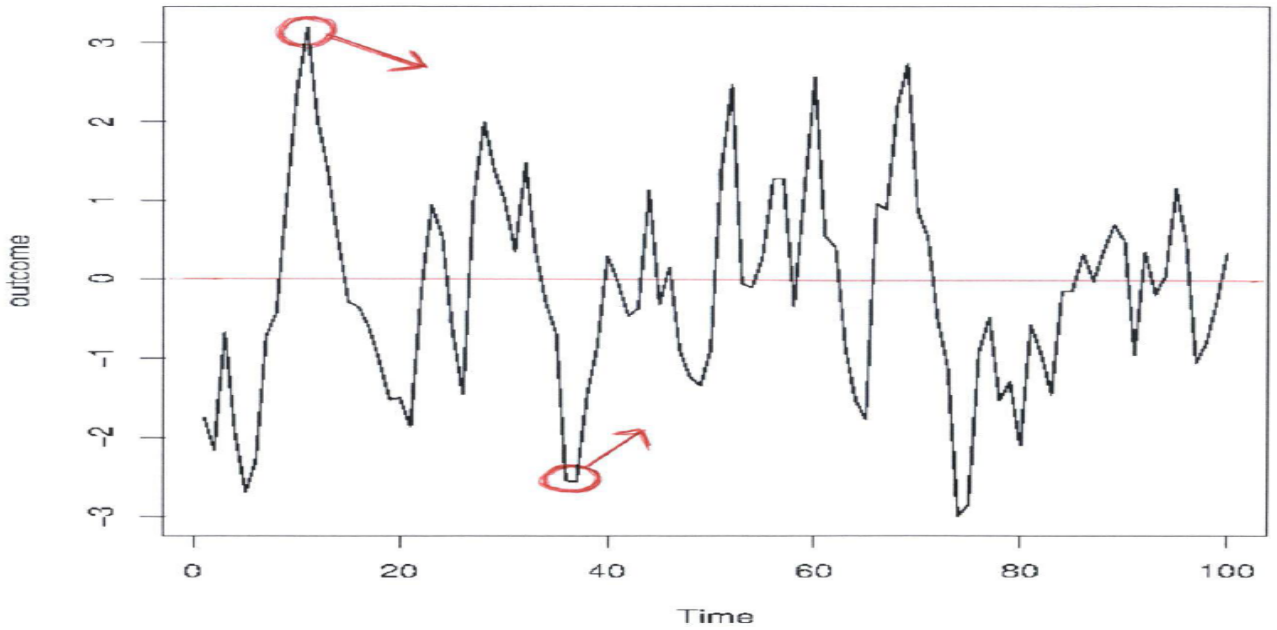
Talrige eksempler fra dagligdagen:

- Efterfølgeren til en rigtig god film bliver sjældent helt så god
- Lungekræftdødeligheden i Fredericia er aftaget
- Placebo-effekten

Det handler om selektion

Hypotetisk situation

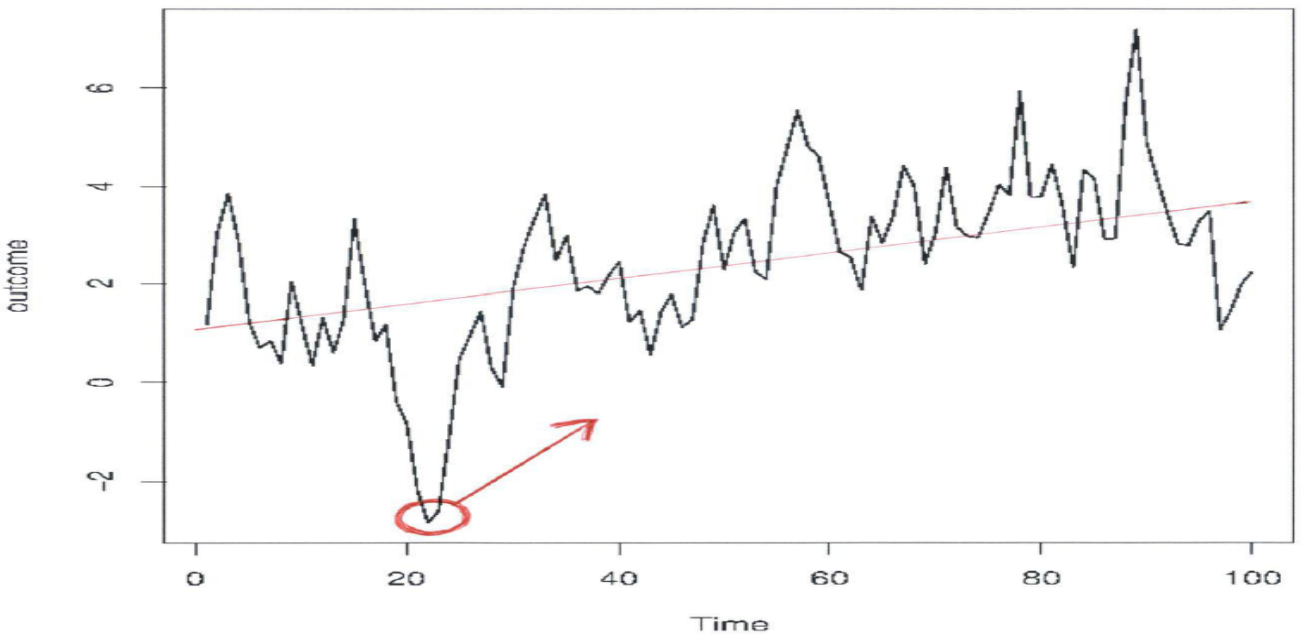
Stabilt outcome:
Hvordan udvikler folk sig, hvis de udvælges, når de udviser en ekstrem værdi?



- Placebo-behandling af folk med forhøjet blodtryk virker....
- Folk med for lav hæmoglobin har godt af at tage ekstra .....

Hypotetisk BMD el.lign.

Outcome med positiv trend:
Hvordan udvikler folk sig, hvis de tilfældigvis udvælges, når de har et lavt niveau?



Den gruppe, der tilfældigvis liger lavt fra starten, vil have tendens til den største stigning.

Hvor vigtigt er det?

Selektionseffektion er størst, når korrelationen mellem gentagne målinger (ρ) er *lille*,
men hvad betyder det?

Det betyder, at vi har at gøre med
et outcome, der kan variere hurtigt, f.eks.

- blodtryk
- hæmoglobin?
- smerter

men ikke

- højde
- knogletæthed

Resultater vedr. skuldersmerter

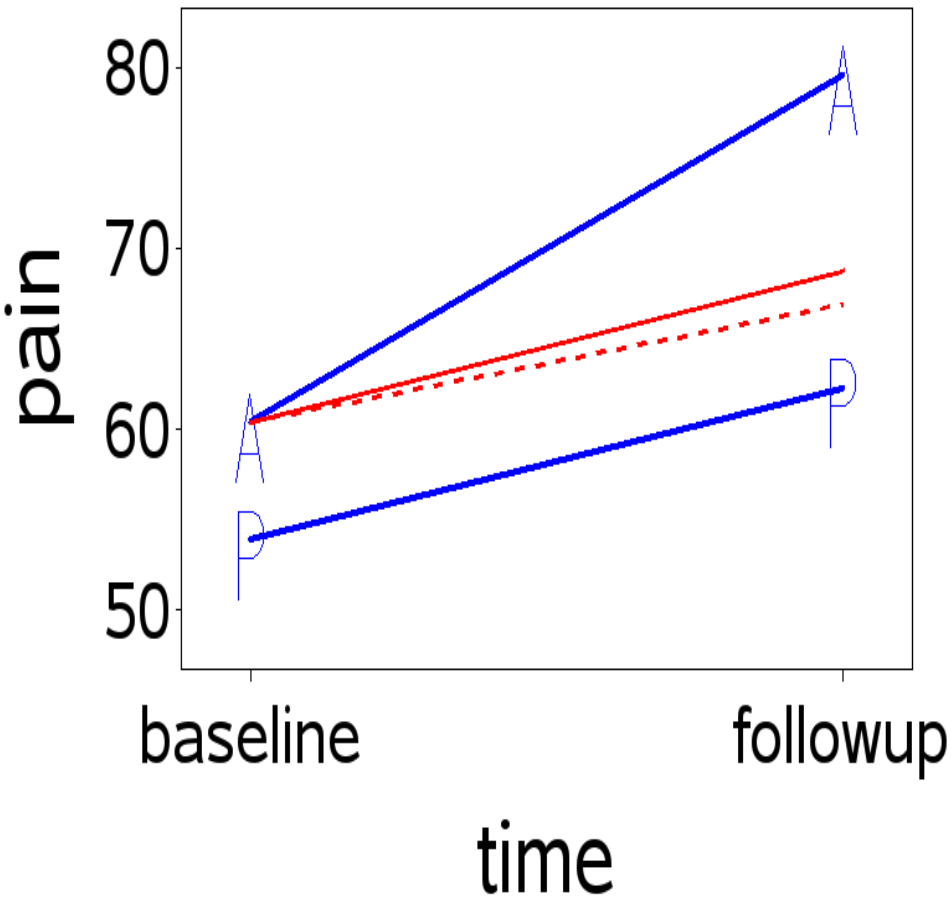
Sammenligninger af de to grupper:

	Gennemsnitlig smertescore placebo (n=27)	akupunktur (n=25)	Behandlinseffekt differens (95% CI)	P-value
Baseline	53.9 (14.0)	60.4 (12.3)	6.5	0.09
Analyse:				
Follow-up	62.3 (17.9)	79.6 (17.1)	17.3 (7.5; 27.1)	0.0008
Ændringer*	8.4 (14.6)	19.2 (16.1)	10.8 (2.3; 19.4)	0.014
Ancova			12.7 (4.1; 21.3)	0.005

* resultater publiceret i Kleinhenz et.al. *Pain* 1999; 83:235-41.

De to baseline værdier er ikke signifikant forskellige,
men de er heller ikke helt ens....

Udvikling i smerter, faktisk og forventeligt



Udlægning af resultater, I

Baseline

- Akupunktur gruppen ligger lidt højere end placebo

Follow-up

- Vi vil forvente, at akupunktur gruppen stadig ligger det samme stykke højere end placebo gruppen efter behandlingen, selv hvis behandlingen ikke virker (fuldt optrukket rød linie).
- Det er derfor urimeligt blot at afgøre behandlingens effekt ved at sammenligne follow-up værdier (forskellen bliver for stor i dette tilfælde)

Udlægning af resultater, II

Differenser/ændringer

- Lav baseline værdi giver forventning om stor positiv ændring (**regression to the mean**)
- Derfor forventes placebogruppen at stige mest, og akupunkturgruppen lidt mindre (den stiplede røde linie)
- og en direkte sammenligning af ændringer er derfor ikke rimelig (forskellen bliver for lille i dette tilfælde)

Ancova

- vurderer forskellen under hensyntagen til, at baseline forklarer *noget*, men *ikke al* forskellen ved follow-up: Vi sammenligner personer, der har fået forskellig behandling, men som starter samme sted.

APPENDIX

Programbidder svarende til diverse slides:

- Bland-Altman plot, s. 82
- T-test, s. 83
- Scatterplot. s. 84, 86, 88
- Kovariansanalyse, s. 85-87, 90
- Model med interaktion, s. 88-89, 92
- Opdelte analyser, s. 91

Bland-Altman plot

Slide 8

```
refetest <-
read.table("http://publicifsv.sund.ku.dk/~lts/basal/Rdata/refe_test.txt",
header=T,na.strings=c("."))


refetest$dif <- refetest$refe - refetest$test
refetest$snit <- (refetest$refe + refetest$test)/2


plot(refetest$snit, refetest$dif,
     ylab="differens: refe - test", xlab="gennemsnit",
     cex.lab=1.8, cex=1.5, col="blue")
abline(0,0,lty=2,col="red")
abline(9.89,0,lty=2,col="blue")
abline(29.29,0,lty=2,col="red")
```

T-test på logaritmer

Slide 21

```
> ttest=lm(su$log10vaegt ~ su$gender)
> confint(ttest)
                       2.5 %      97.5 %
(Intercept)       1.85349462  1.90053311
su$genderfemale -0.08920598 -0.02837495
```

Nu skifter vi lige fortegn inden tilbagetransformationen:

```
> 10^(-confint(ttest))
                      2.5 %     97.5 %
(Intercept)      0.01401217 0.01257381
su$genderfemale 1.22802153 1.06751736
```

Scatter plot, med regressionslinier

Slide 23 og 37

```
reg.M = lm(su$log10vaegt[su$gender=="male"] ~
           su$log10hoejde[su$gender=="male"])
reg.F = lm(su$log10vaegt[su$gender=="female"] ~
           su$log10hoejde[su$gender=="female"])

color = rep(NA, length=length(su$gender))
color[which(su$gender=="male")] = "red"
color[which(su$gender=="female")] = "blue"

mycolor = c("red", "blue")[su$gender]
mypch = c(3,1)[su$gender]

plot(su$log10hoejde, su$log10vaegt, main="Two regressions",
     ylab="log10vaegt", xlab="log10hoejde",
     pch=mypch, col=mycolor, cex.lab=1.5)
legend(0.25, 1.6, legend=c("female", "male"), pch=c(2,3),
       col=c("blue", "red"), cex=1.5)
abline(reg.M,col="red")
abline(reg.F,col="blue")
```

Kovariansanalyse - ANCOVA

Slide 24 og 25

```
ancova = lm(log10vaegt ~ log10hoejde + gender,
            na.action=na.exclude, data=su)
summary(ancova)
confint(ancova)
```

Herefter kan bruges

- `summary` giver estimater
- `confint` giver konfidensintervaller
- `anova` giver en variansanalysetabel

ANCOVA-plot, med parallelle linier

Slide 28

```
ny.F = data.frame(log10hoejde=seq(0.175,0.300,0.0025),gender="female")
pred.F = predict(ancova, ny.F)
ny.M = data.frame(log10hoejde=seq(0.175,0.300,0.0025),gender="male")
pred.M = predict(ancova, ny.M)

plot(su$log10hoejde, su$log10vaegt, main="Analysis of Covariance",
     ylab="log10vaegt", xlab="log10hoejde",
     pch=mypch, col=mycolor, cex.lab=1.5)
legend(0.25, 1.6, legend=c("female", "male"), pch=c(2,3),
       col=c("blue", "red"), cex=1.5)
lines(ny.F$log10hoejde, pred.F, type = "l", col="blue")
lines(ny.M$log10hoejde, pred.M, type = "l", col="red")
```

Modelkontrol i ANCOVA

Slide 31

```
par(mfrow=c(2,2))
plot(ancova,which=1, cex.lab=1.5)
plot(ancova,which=2, cex.lab=1.5)
plot(ancova,which=3, cex.lab=1.5)
plot(ancova,which=4, cex.lab=1.5)
dev.off()

scatter.smooth(su$log10hoejde, resid(ancova), main="Loess",
ylab="residual", xlab="log10hoejde", cex.lab=1.5,
lpars = list(col = "red", lwd = 3, lty = 3))
abline(0,0,col="red",lty=2)
```

Hvis man ønsker fuld kontrol over modelkontrollen, kan man arbejde videre med nye variable, såsom `predict(ancova)` og `resid(ancova)`.

Model med to regressionslinier, tilbagetransformeret

altså inkluderende interaktion

Slide 38 og 45

```
interaktion = lm(log10vaegt ~ log10hoejde + gender + gender:log10hoejde,
      na.action=na.exclude, data=su)
summary(interaktion)
confint(interaktion)

pred.F = 10^(predict(interaktion, ny.F))
pred.M = 10^(predict(interaktion, ny.M))

plot(10^(ny.F$log10hoejde), pred.F,
               ylab="predikteret vaegt",
               xlab="hoejde", cex.lab=1.5,type="n")
legend(1.8,60, legend=c("female", "male"), pch=c(2,3),
       col=c("blue", "red"), cex=1.5)
lines(10^(ny.F$log10hoejde), pred.F, type = "l", col="blue")
lines(10^(ny.M$log10hoejde), pred.M, type = "l", col="red")
points(su$hoejde[su$gender=="female"],
       10^(fitted(interaktion)[su$gender=="female"]),col="blue")
points(su$hoejde[su$gender=="male"],
       10^(fitted(interaktion)[su$gender=="male"]),col="red")
```

Omregning til to linier

Slide 42-43

Her indgår `log10hoejde` kun i leddet `gender:log10hoejde`, hvorved man får begge hældninger i output, og der skrives endvidere `-1` for at få begge intercepter.

```
interaktion1 = lm(log10vaegt ~ gender +
      gender:log10hoejde -1,
      na.action=na.exclude, data=su)

summary(interaktion1)

confint(interaktion1)
```

Kovariansanalyse

Slide 54

```
> ancova = lm(logamh ~ alder + factor(ppiller),
+   na.action=na.exclude, data=pill)
> summary(ancova)
```

Herefter kan bruges

- `summary` giver estimater
- `confint` giver konfidensintervaller
- `anova` giver en variansanalysetabel

Opdelte analyser

Slide 61

```
pill.0 <- subset(pill, ppiller==0,)

reg.0 = lm(logamh ~ alder,
    na.action=na.exclude, data=pill.0)

cbind(confint(reg.0)["alder",1],
      reg.0$coefficients["alder"],
      confint(reg.0)["alder",2])


pill.1 <- subset(pill, ppiller==1,)

reg.1 = lm(logamh ~ alder,
    na.action=na.exclude, data=pill.1)

cbind(confint(reg.1)["alder",1],
      reg.1$coefficients["alder"],
      confint(reg.1)["alder",2])
```


Test for interaktion

Slide 63

```
interaktion = lm(logamh ~ alder + factor(ppiller) +
  factor(ppiller):alder,
  na.action=na.exclude, data=pill)
summary(interaktion)
```

Prediktion i tilfælde af interaktion

Slide 65

Hvis vi vil prediktere niveauet for begge grupper for hver hele alder fra 20 til 40 (21 aldre), laver vi et nyt datasæt med 2×21 observationer, og predikterer outcome fra disse ud fra den anvendte model, her kaldet `interaktion`:

```
ny.ppiller=c(rep(0,21),rep(1,21))
ny.alder=rep(20:40,2)
ny = data.frame(ppiller=ny.ppiller, alder=ny.alder)

pred = predict(interaktion, ny)
cbind(ny.ppiller,ny.alder,pred)
```

Outcome `logamh` vil da blive predikteret for hver af disse personer, og man kan derefter fratrække for samme alder, men forskellig P-pille status og lave en figur.