

10. Algemeen Lineair Model - Factoriële Designs

Lieven Clement

statOmics, Ghent University (<https://statomics.github.io>)

Contents

1	Introductie	1
2	Data	1
3	Model	3
3.1	Transformaties	8
4	Inferentie	18
4.1	Verwijderen van niet-significante interactie.	19
4.2	Niet-significante interactie term in het model weerhouden	24
5	Conclusie	30

1 Introductie

In deze sectie illustreren we hoe experimenten met een factoriële proefopzet geanalyseerd kunnen worden met het algemeen lineair model.

We focussen hierbij op een two-way anova design waarbij we een continue response modelleren in functie van twee categorische predictor variabelen (factoren).

2 Data

48 ratten werden at random toegewezen aan

- 3 giffen (I,II,III) and
- 4 behandelingen (A,B,C,D),

en,

- de overlevingstijd werd opgemeten (eenheid: 10 h)

We transformeren de data eerst naar uren

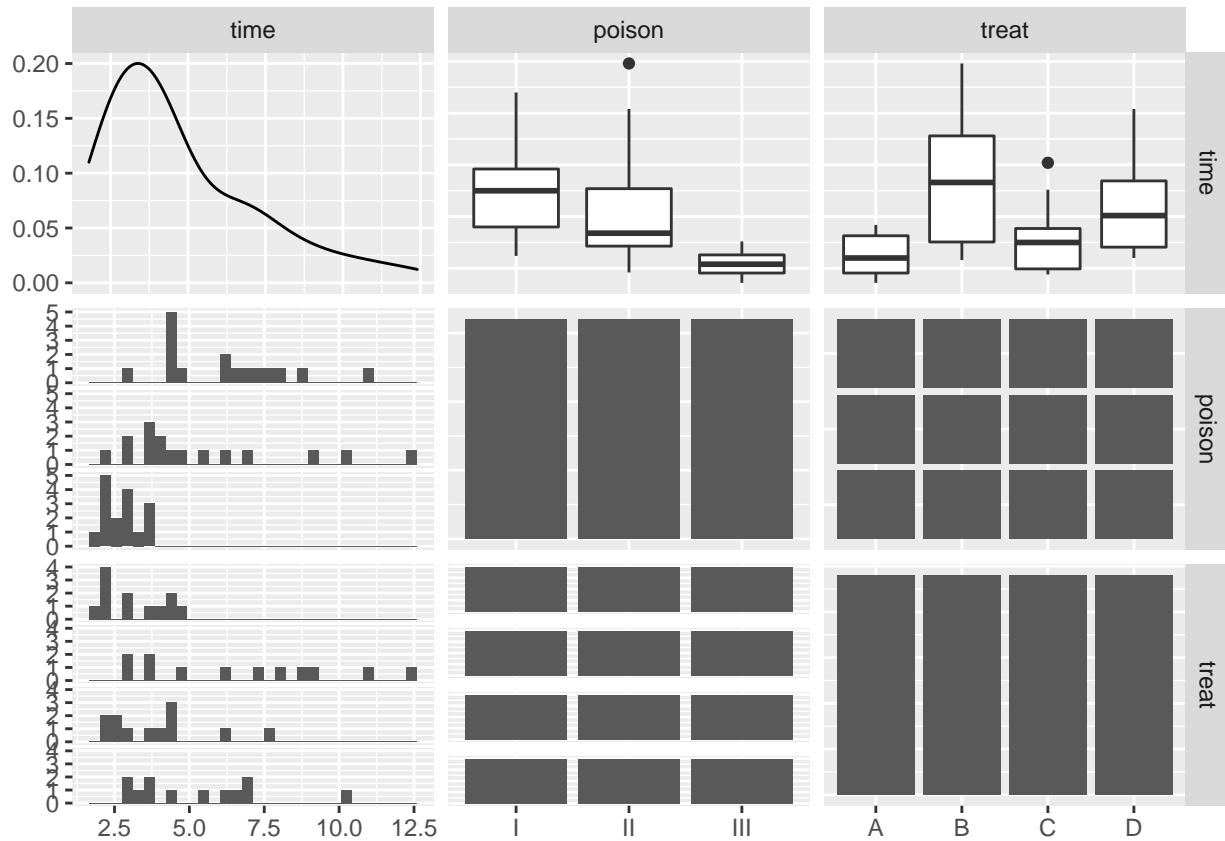
```

library(faraway)
data(rats)

rats <- rats %>%
  mutate(time=time * 10)

library(GGally)
rats %>%
  ggpairs()

```

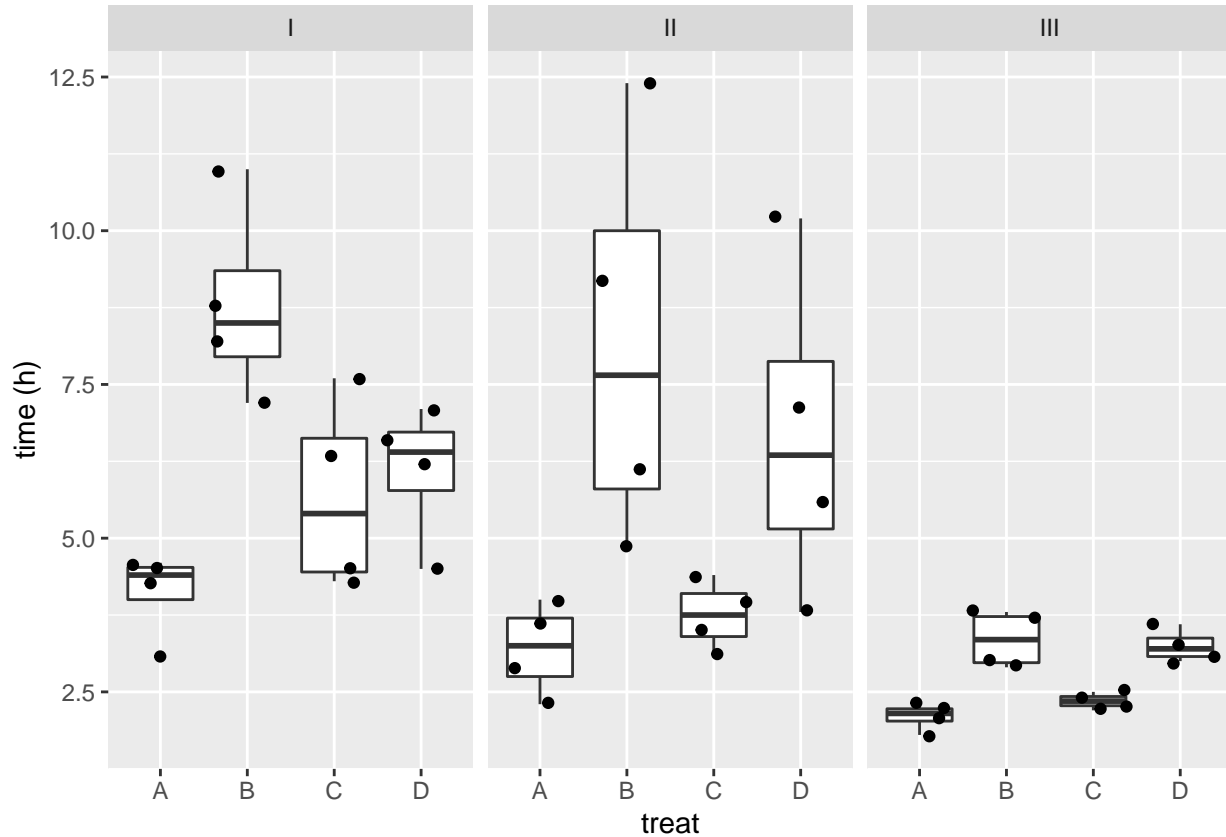


De data exploratie suggereert een effect van beide factoren.

```

rats %>%
  ggplot(aes(x=treat,y=time)) +
  geom_boxplot(outlier.shape=NA) +
  geom_jitter() +
  facet_wrap(~poison) +
  ylab("time (h)")

```



- Er zou een interactie kunnen zijn tussen behandeling en gif, het effect van het gif op de overlevingstijd hangt dan af van de behandeling en vice versa.
- De boxplots geven ook aan dat de data heteroscedastisch zijn.

3 Model

We modelleren de data met een hoofdeffect voor gif en behandeling en een gif \times behandeling interactie.

$$\begin{aligned}
 y_i = & \beta_0 + \\
 & \beta_{II}x_{iII} + \beta_{III}x_{iIII} + \\
 & \beta_Bx_{iB} + \beta_Cx_{iC} + \beta_Dx_{iD} + \\
 & \beta_{II:B}x_{iII}x_{iB} + \beta_{II:C}x_{iII}x_{iC} + \beta_{II:D}x_{iII}x_{iD} + \\
 & \beta_{III:B}x_{iIII}x_{iB} + \beta_{III:C}x_{iIII}x_{iC} + \beta_{III:D}x_{iIII}x_{iD} + \epsilon_i
 \end{aligned}$$

met $i = 1, \dots, n$, $n = 48$, en, x_{iII} , x_{iIII} , x_{iB} , x_{iC} en x_{iD} dummy variabelen voor respectievelijk gif II, III, behandeling B, C, en D.

```
rats1 <- lm(time~poison*treat, rats)
summary(rats1)
```

```
Call:
lm(formula = time ~ poison * treat, data = rats)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-3.2500	-0.4875	0.0500	0.4313	4.2500

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	4.1250	0.7457	5.532	2.94e-06	***
poisonII	-0.9250	1.0546	-0.877	0.3862	
poisonIII	-2.0250	1.0546	-1.920	0.0628	.
treatB	4.6750	1.0546	4.433	8.37e-05	***
treatC	1.5500	1.0546	1.470	0.1503	
treatD	1.9750	1.0546	1.873	0.0692	.
poisonII:treatB	0.2750	1.4914	0.184	0.8547	
poisonIII:treatB	-3.4250	1.4914	-2.297	0.0276	*
poisonII:treatC	-1.0000	1.4914	-0.671	0.5068	
poisonIII:treatC	-1.3000	1.4914	-0.872	0.3892	
poisonII:treatD	1.5000	1.4914	1.006	0.3212	
poisonIII:treatD	-0.8250	1.4914	-0.553	0.5836	

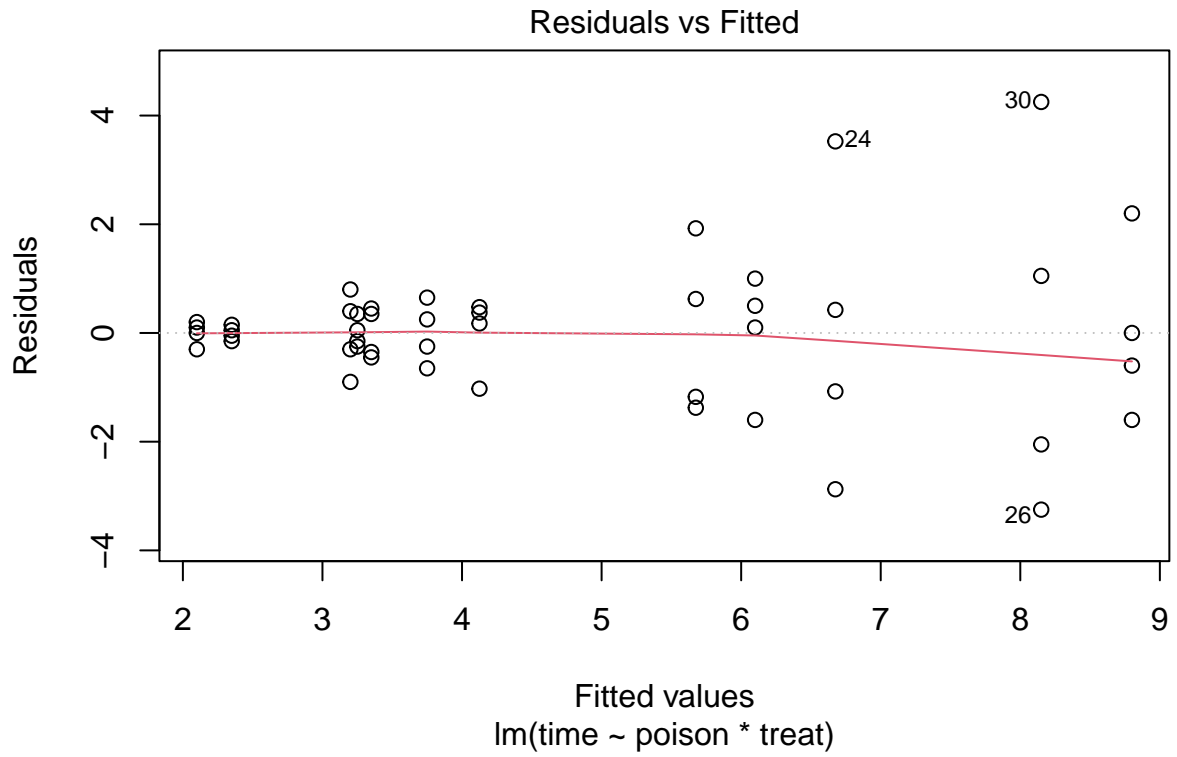
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

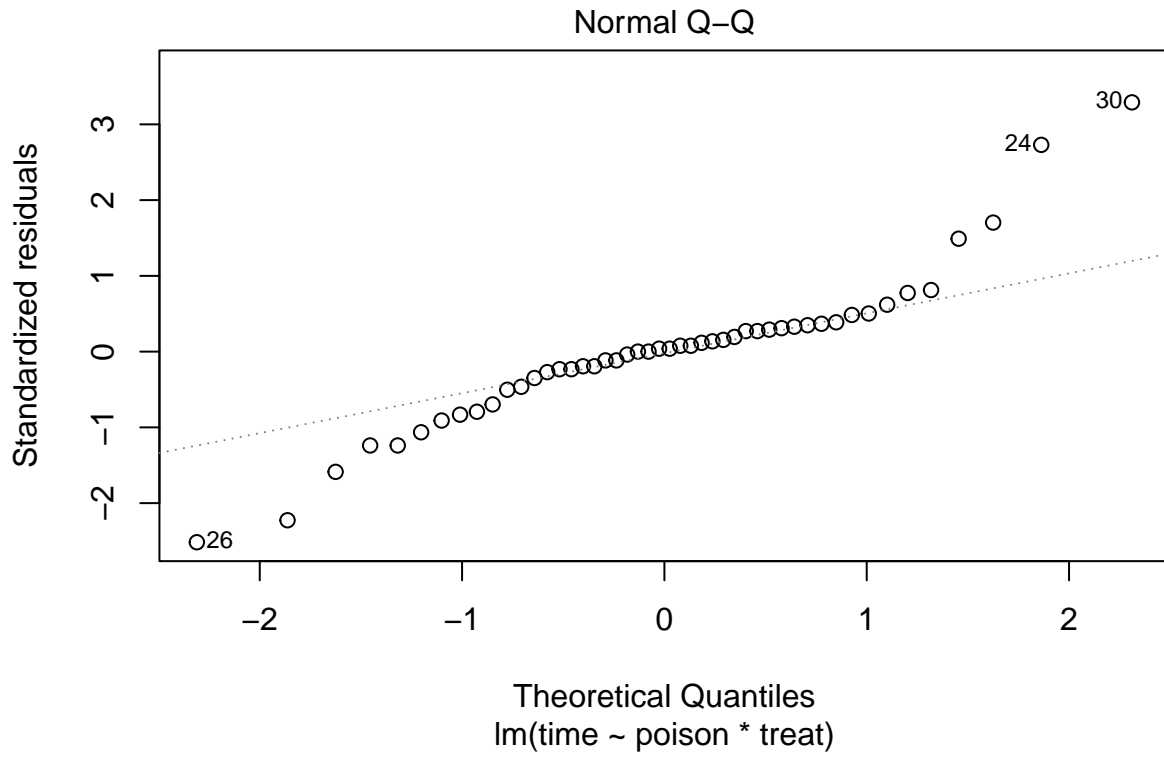
Residual standard error: 1.491 on 36 degrees of freedom

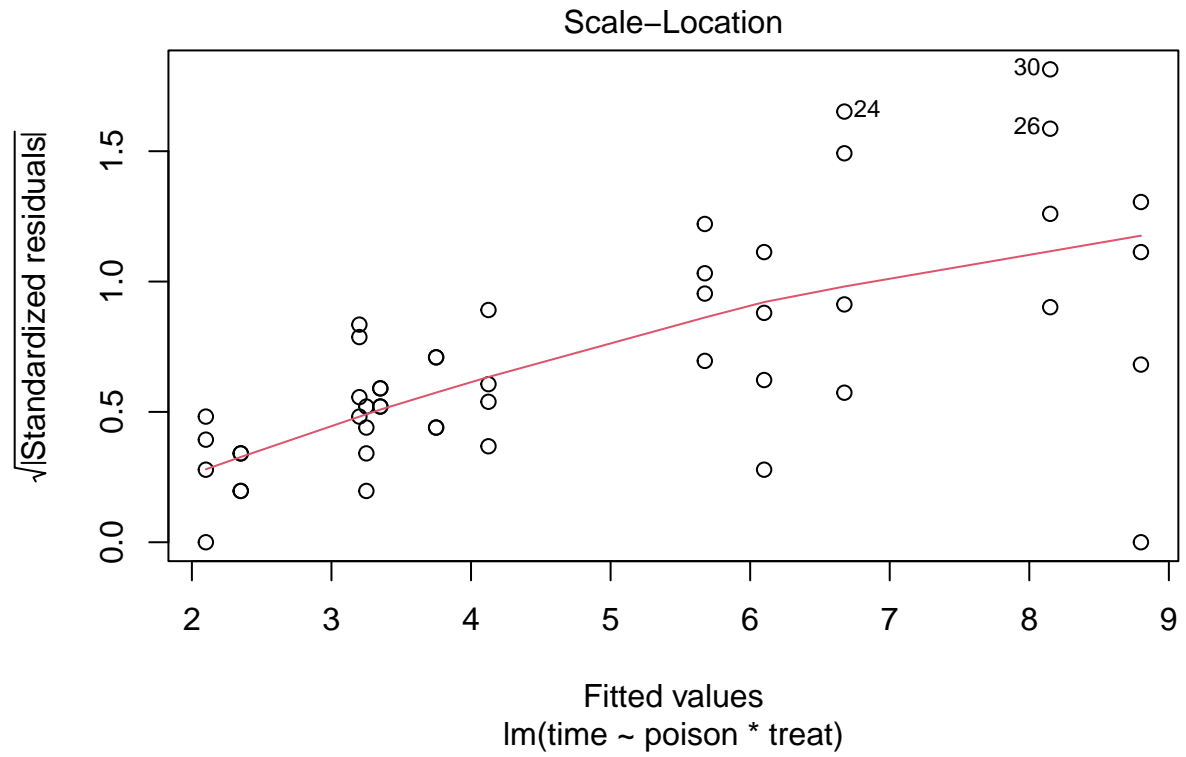
Multiple R-squared: 0.7335, Adjusted R-squared: 0.6521

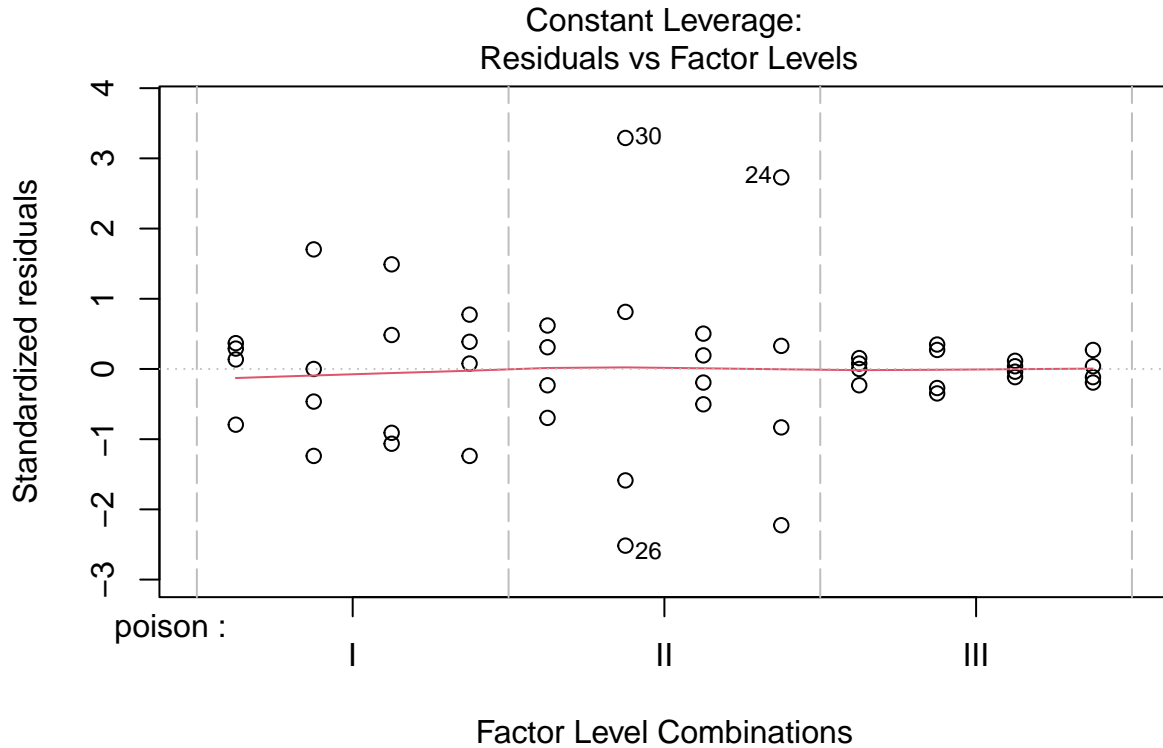
F-statistic: 9.01 on 11 and 36 DF, p-value: 1.986e-07

```
plot(rats1)
```







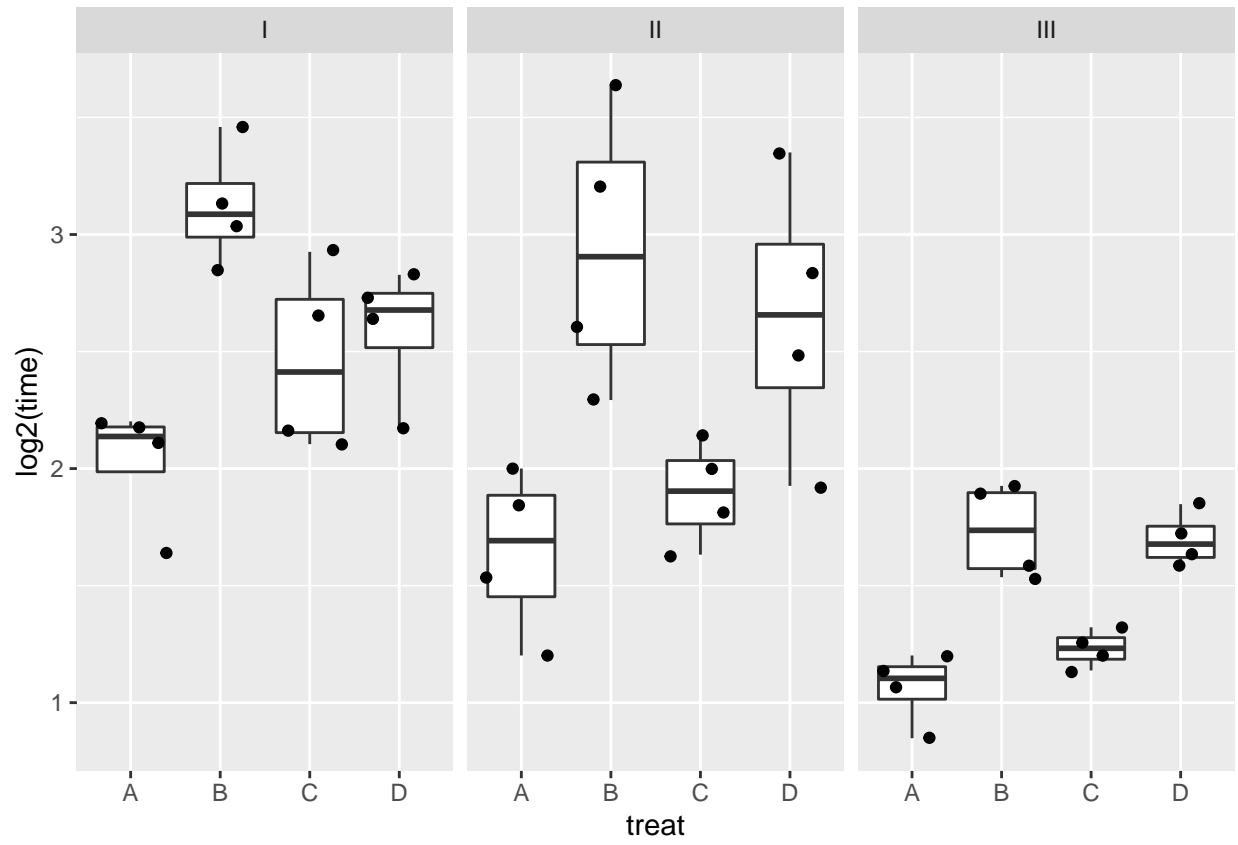


De errors zijn heteroscedastisch. De residu plot suggereert een relatie tussen gemiddelde en variantie. De QQ-plot suggereert dat de verdeling mogelijk brede staarten heeft dan de normale verdeling.

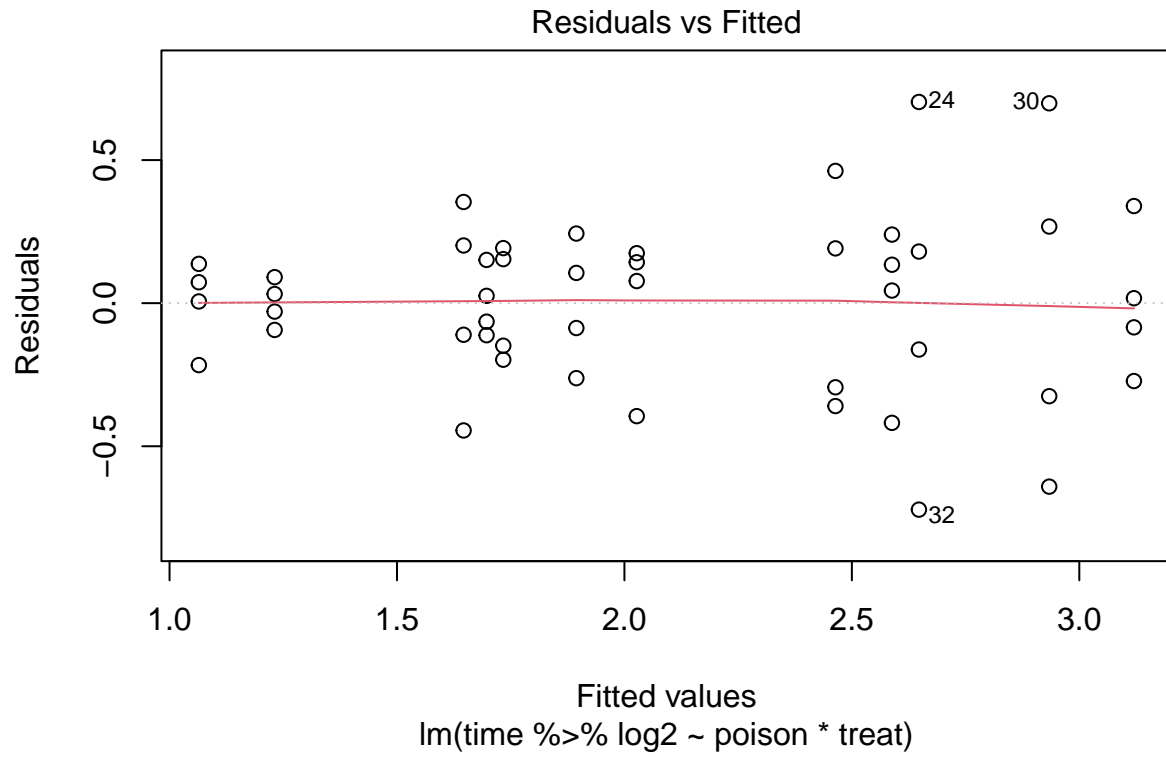
3.1 Transformaties

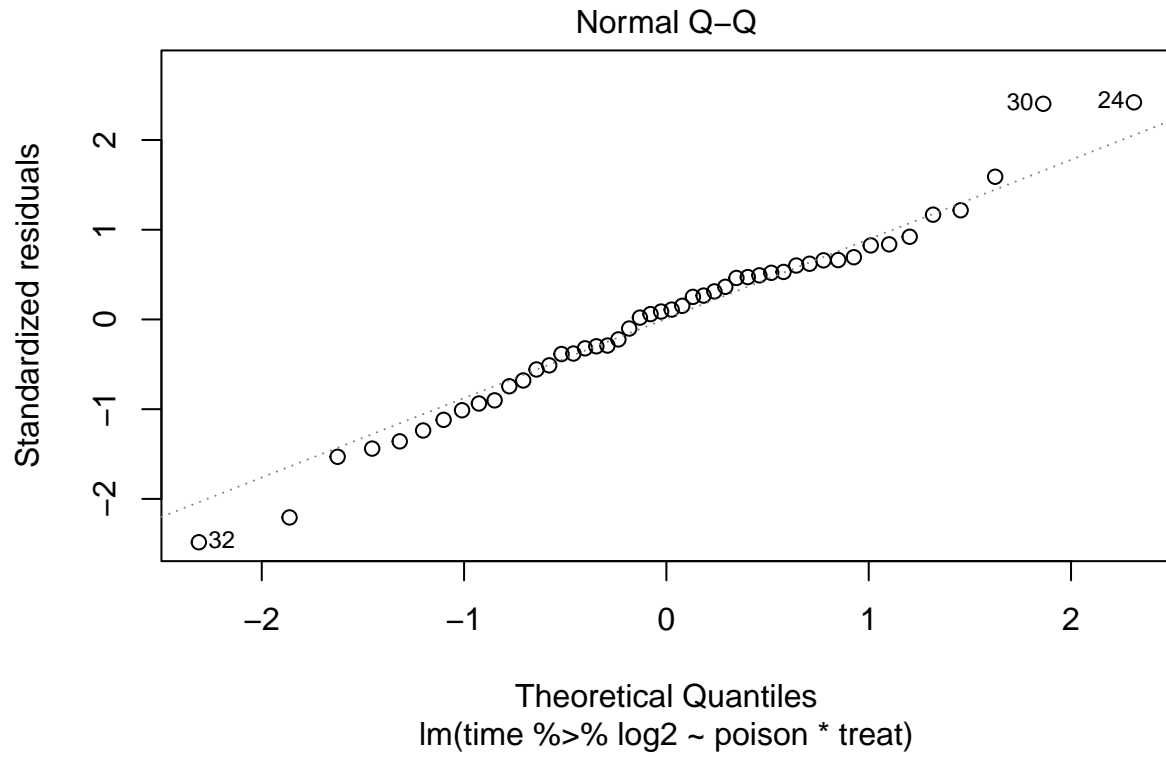
3.1.1 Logaritmische transformatie

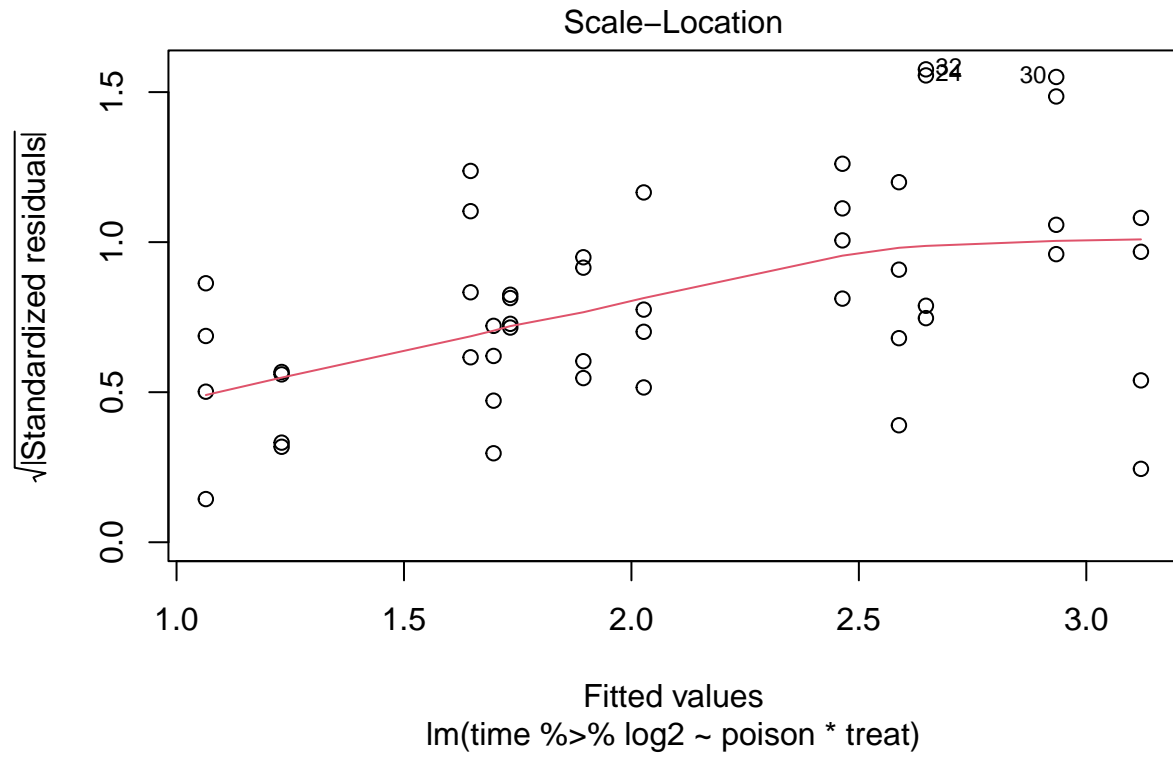
```
rats %>%
  ggplot(aes(x=treat,y=log2(time))) +
  geom_boxplot(outlier.shape=NA) +
  geom_jitter() +
  facet_wrap(~poison)
```

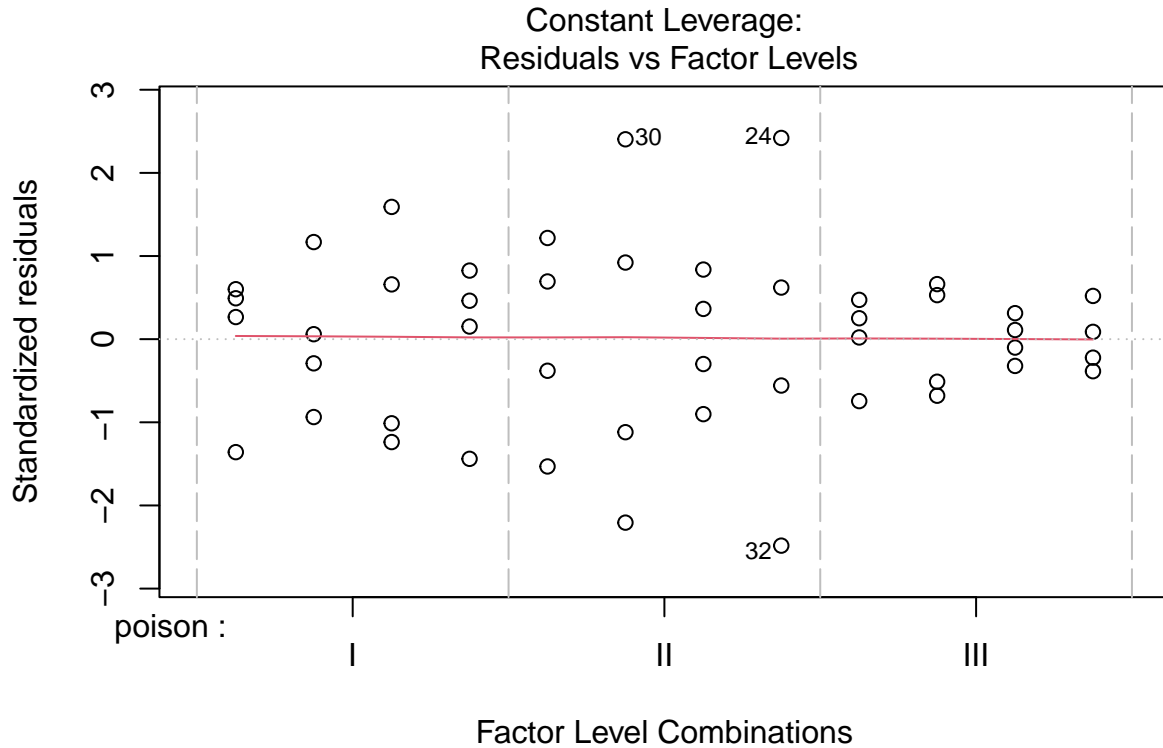



```
rats2 <- lm(time %>% log2~poison*treat, rats)
plot(rats2)
```





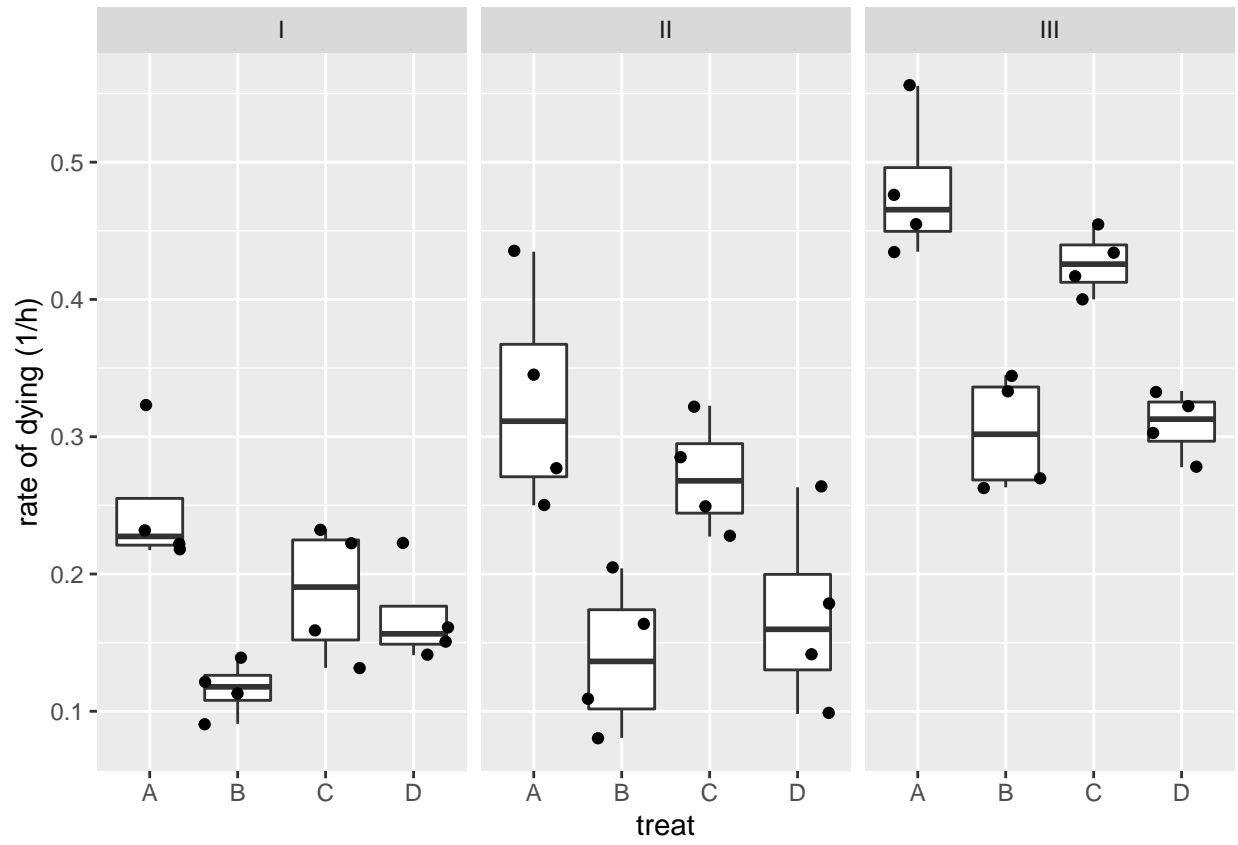




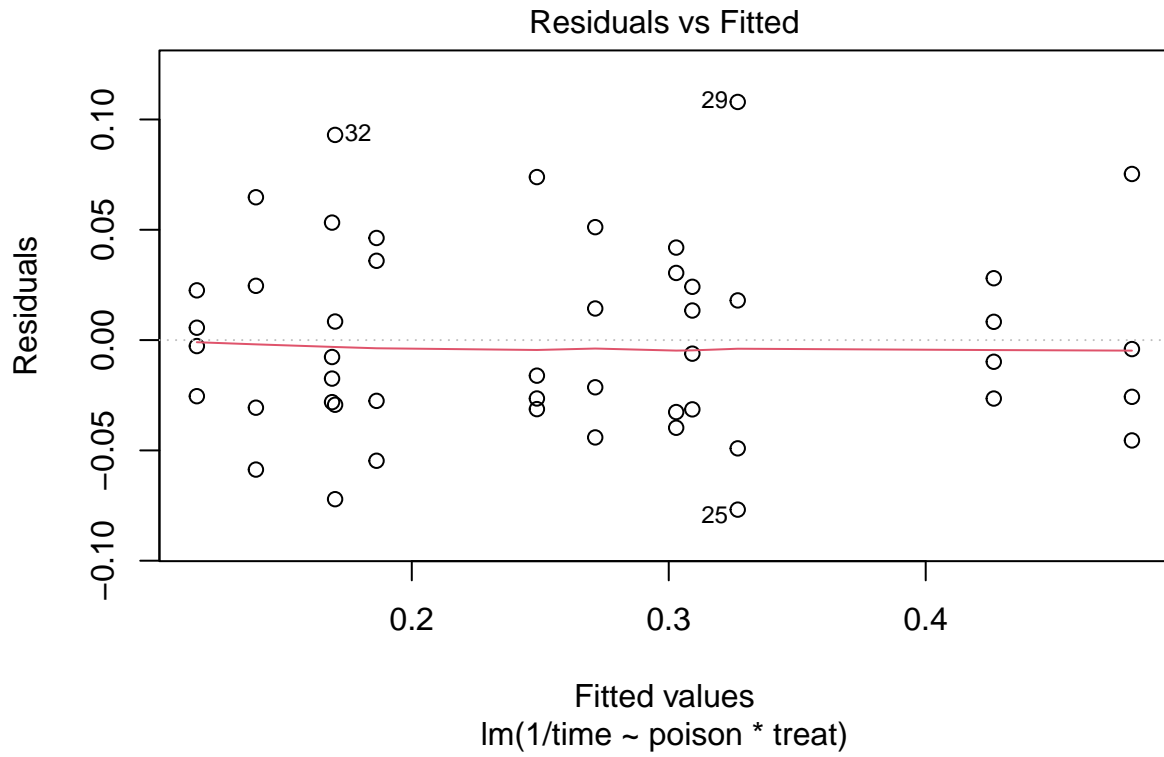
Log transformatie verwijdert heteroscedasticiteit niet volledig.

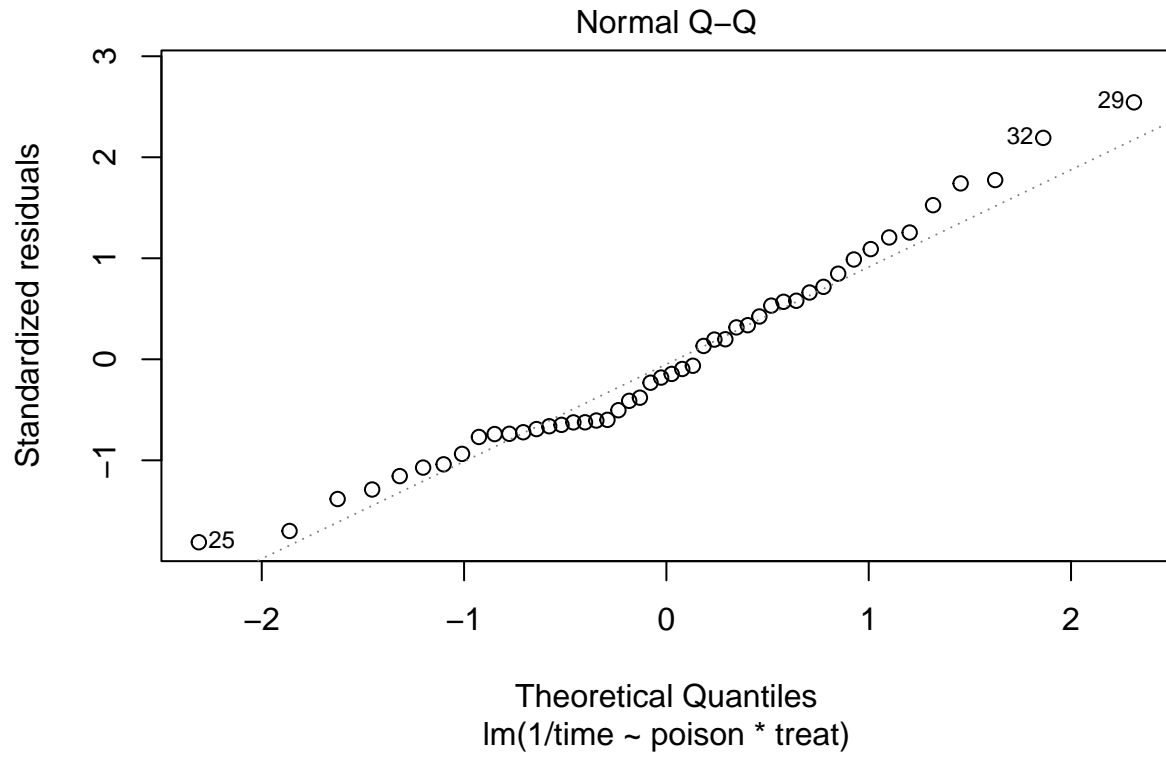
3.1.2 Reciproke transformatie

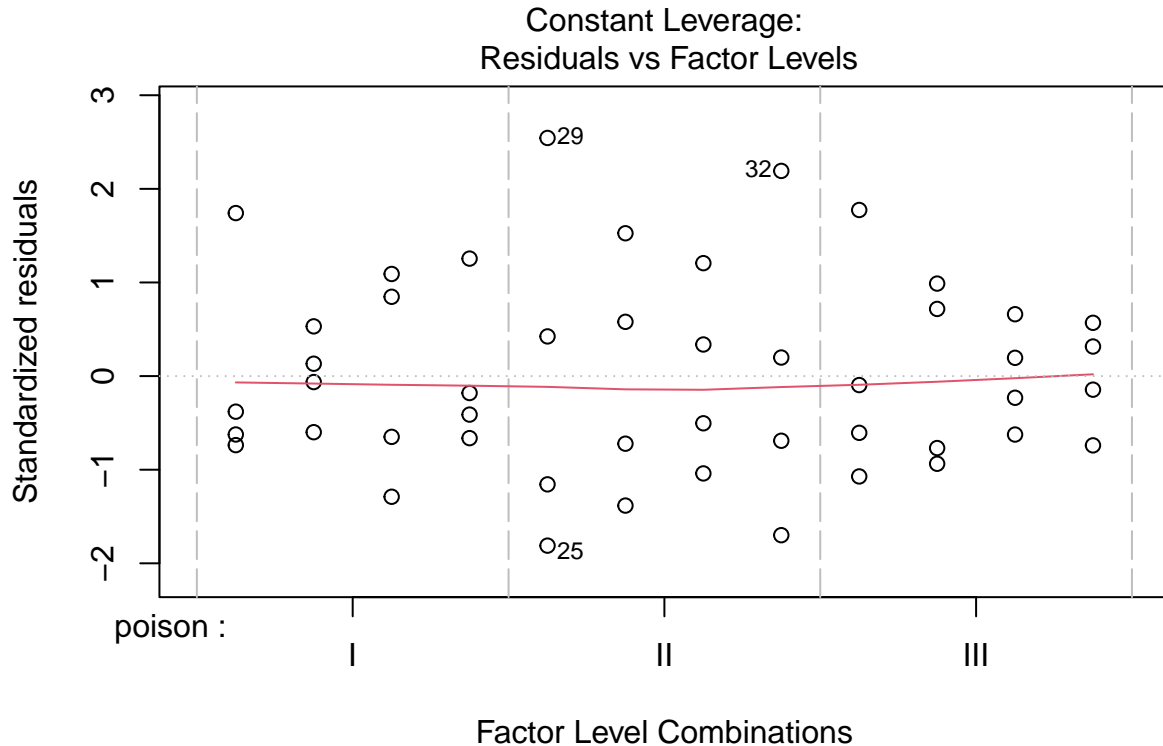
```
rats %>%
  ggplot(aes(x=treat,y=1/time)) +
  geom_boxplot(outlier.shape=NA) +
  geom_jitter() +
  facet_wrap(~poison) +
  ylab ("rate of dying (1/h)")
```



```
rats3 <- lm(1/time~poison*treat, rats)
plot(rats3)
```







De reciproke transformatie lijkt beter. Transformaties bemoeilijken soms de interpretatie. Hier kan de reciproke transformatie echter worden geïnterpreteerd als de “snelheid van sterven” (rate of dying).

4 Inferentie

Er zijn meerdere interactie termen in het model. We kunnen deze eerst samen testen a.d.h.v. van de resultaten uit de anova tabel.

```
library(car)
Anova(rats3, type="III")
```

Anova Table (Type III tests)

Response: 1/time

	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)	
(Intercept)	0.247383	1	103.0395	4.158e-12	***
poison	0.111035	2	23.1241	3.477e-07	***
treat	0.035723	3	4.9598	0.005535	**
poison:treat	0.015708	6	1.0904	0.386733	
Residuals	0.086431	36			

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

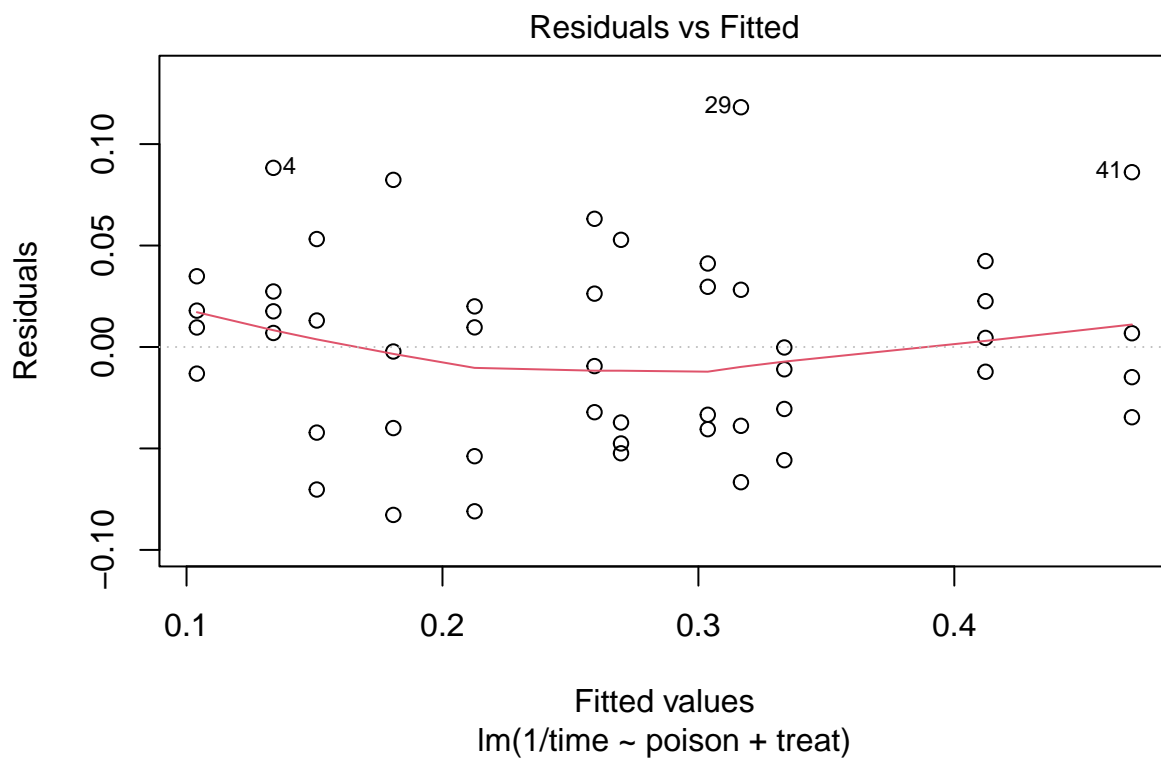
4.1 Verwijderen van niet-significante interactie.

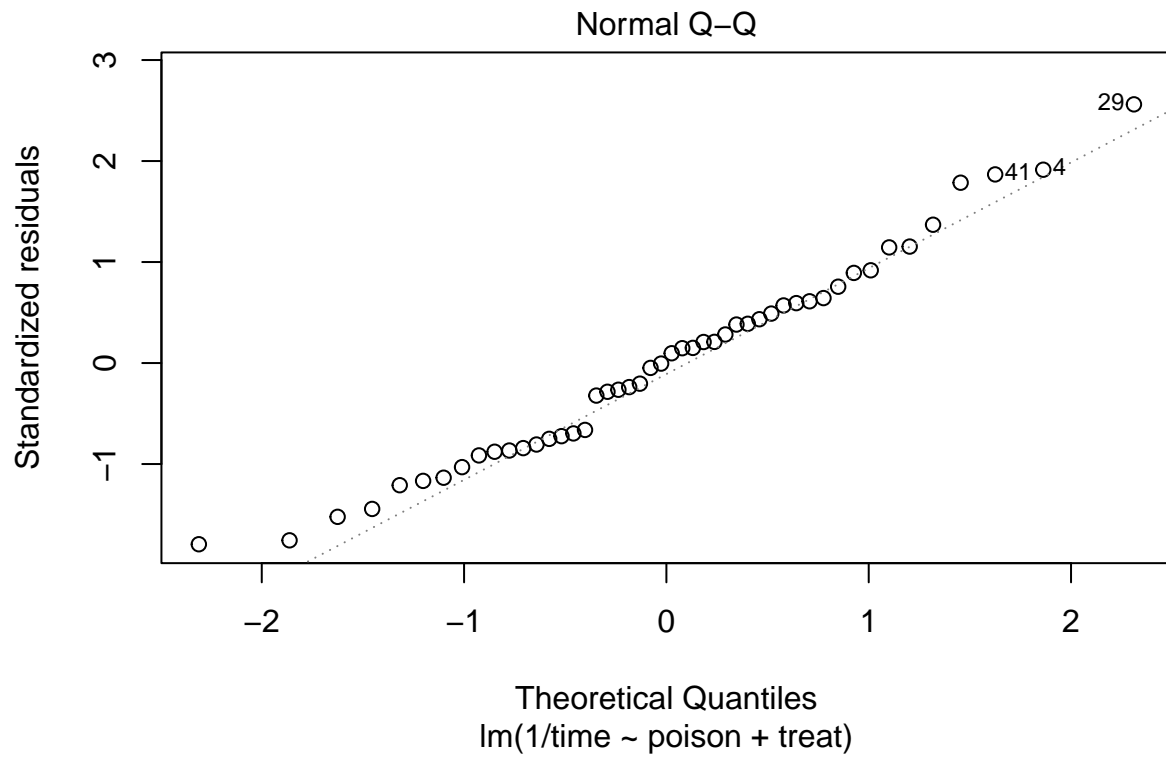
De interactie tussen gif en behandeling is niet significant op het 5% niveau.

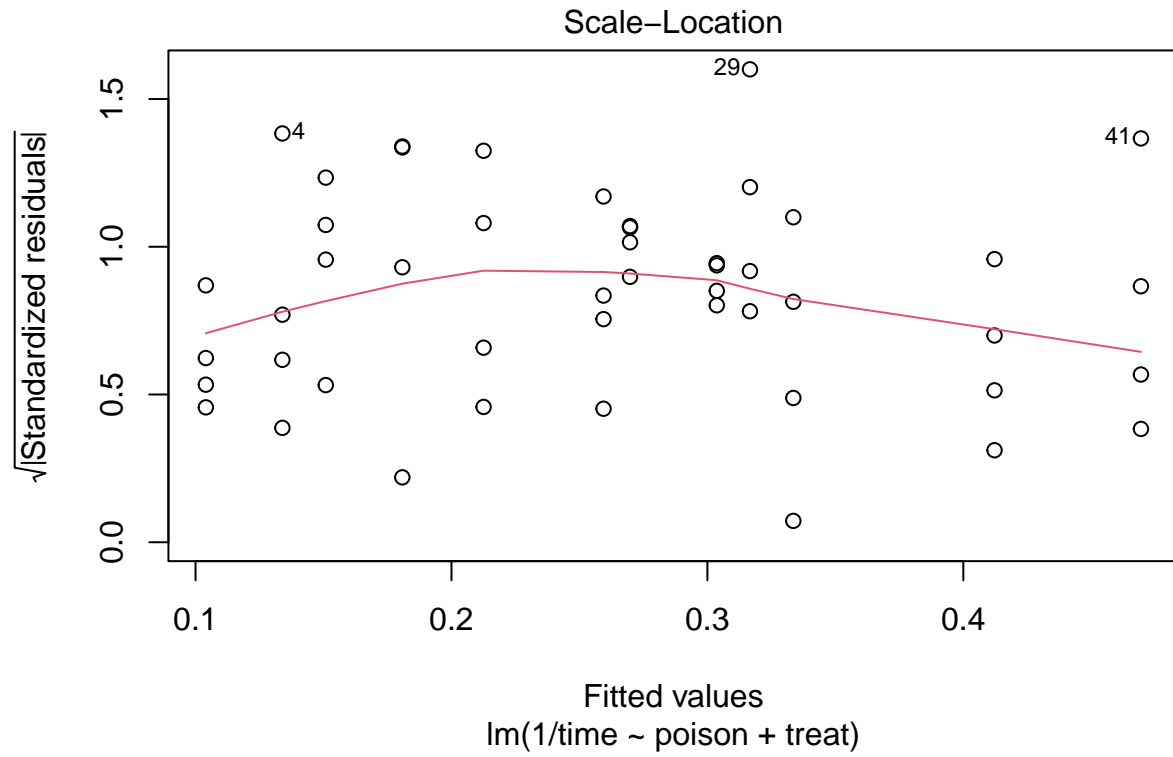
Een veelgebruikte methode is om de niet-significante interactie te verwijderen uit het model.

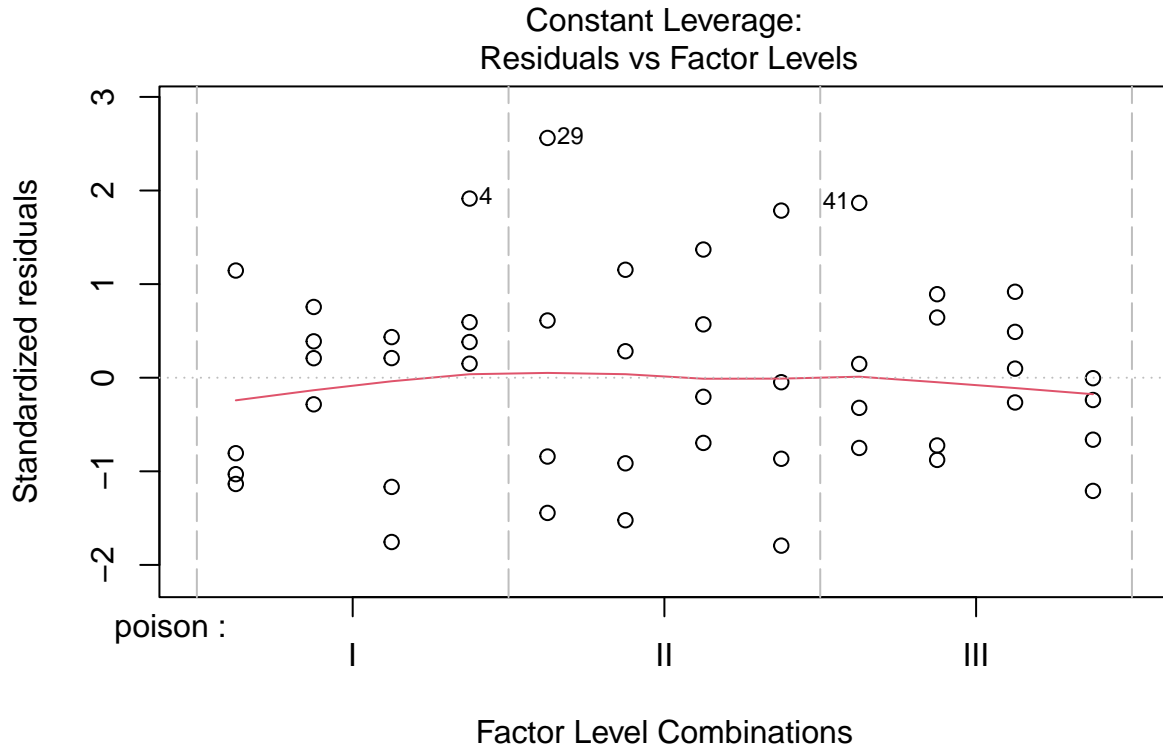
We verkrijgen dan een additief model wat toelaat om de effecten van de twee factoren afzonderlijk te bestuderen.

```
rats4 <- lm(1/time~poison + treat, rats)
plot(rats4)
```









We zien wel iets meer afwijkingen in de residu plot.

```
Anova(rats4, type="III")
```

Anova Table (Type III tests)

Response: 1/time

	Sum Sq	Df	F value	Pr(>F)
(Intercept)	0.58219	1	239.399	< 2.2e-16 ***
poison	0.34877	2	71.708	2.865e-14 ***
treat	0.20414	3	27.982	4.192e-10 ***
Residuals	0.10214	42		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

De anova tabel toont dat het effect van gif en behandeling beiden extreem significant zijn (beide $p \ll 0.001$).

Het additieve model laat toe om de effecten van het type gif en de behandeling afzonderlijke te bestuderen via een post-hoc analyse.

```
library(multcomp)
comparisons <- glht(rats4, linfct = mcp(poison = "Tukey", treat="Tukey"))
summary(comparisons)
```

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: `lm(formula = 1/time ~ poison + treat, data = rats)`

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
poison: II - I == 0	0.04686	0.01744	2.688	0.0734	.
poison: III - I == 0	0.19964	0.01744	11.451	<0.001	***
poison: III - II == 0	0.15278	0.01744	8.763	<0.001	***
treat: B - A == 0	-0.16574	0.02013	-8.233	<0.001	***
treat: C - A == 0	-0.05721	0.02013	-2.842	0.0508	.
treat: D - A == 0	-0.13583	0.02013	-6.747	<0.001	***
treat: C - B == 0	0.10853	0.02013	5.391	<0.001	***
treat: D - B == 0	0.02991	0.02013	1.485	0.6155	
treat: D - C == 0	-0.07862	0.02013	-3.905	0.0028	**

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)

```
confint(comparisons)
```

Simultaneous Confidence Intervals

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts

Fit: `lm(formula = 1/time ~ poison + treat, data = rats)`

Quantile = 2.8507

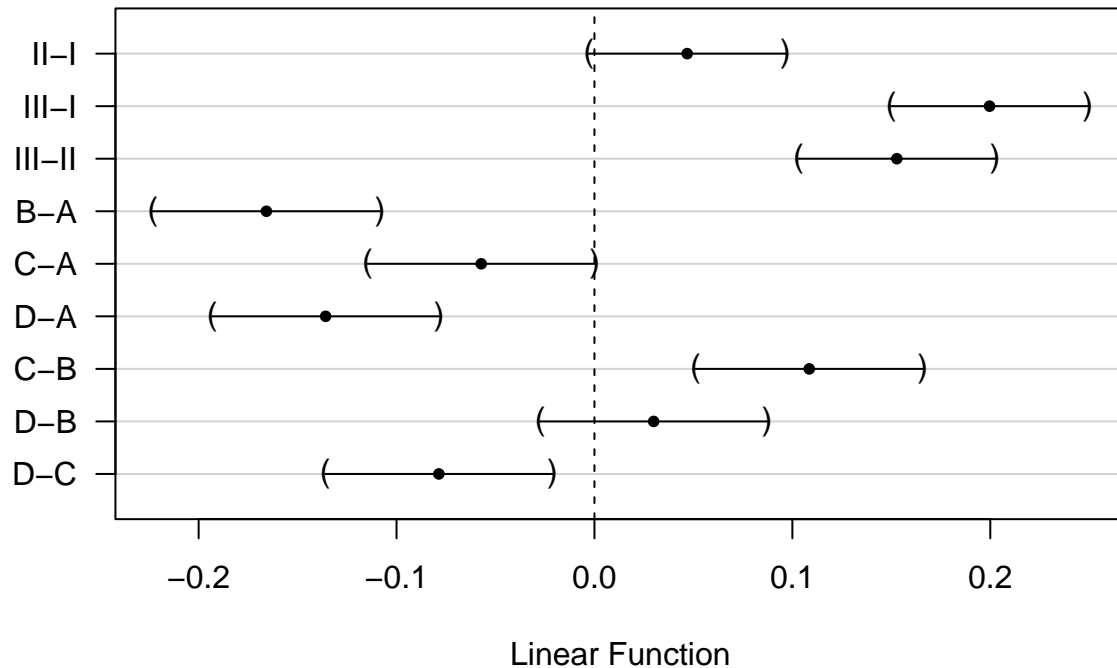
95% family-wise confidence level

Linear Hypotheses:

	Estimate	lwr	upr
poison: II - I == 0	0.0468641	-0.0028382	0.0965665
poison: III - I == 0	0.1996425	0.1499401	0.2493448
poison: III - II == 0	0.1527784	0.1030760	0.2024807
treat: B - A == 0	-0.1657402	-0.2231316	-0.1083489
treat: C - A == 0	-0.0572135	-0.1146049	0.0001778
treat: D - A == 0	-0.1358338	-0.1932252	-0.0784425
treat: C - B == 0	0.1085267	0.0511354	0.1659180
treat: D - B == 0	0.0299064	-0.0274849	0.0872977
treat: D - C == 0	-0.0786203	-0.1360116	-0.0212290

```
plot(comparisons, yaxt="none")  
contrastNames <- c("II-I", "III-I", "III-II", "B-A", "C-A", "D-A", "C-B", "D-B", "D-C")  
axis(2, at=c(length(contrastNames):1), labels=contrastNames, las=2)
```

95% family-wise confidence level



4.2 Niet-significante interactie term in het model weerhouden

Het aanvaarden van de null hypothese dat er geen interactie is, is een zwakke conclusie. Het zou immers kunnen dat de power van het experiment te klein is om de interactie op te pikken. We kunnen er ook voor kiezen om de niet significante interactie term in het model te laten.

Als de interactie significant zou zijn geweest, betekent dit dat het effect van het gif op de snelheid van sterven afhangt van de behandeling en vice versa. Dan kunnen we het effect van het type gif en de behandeling op de overlevingstijd niet afzonderlijk bestuderen.

```
ExploreModelMatrix::VisualizeDesign(rats, ~poison*treat)$plot
```

```
[[1]]
```


poison	III	(Intercept) + poisonIII	(Intercept) + poisonIII + treatB + poisonIII:treatB	(Intercept) + poisonIII + treatC + poisonIII:treatC	(Intercept) + poisonIII + treatD + poisonIII:treatD
	II	(Intercept) + poisonII	(Intercept) + poisonII + treatB + poisonII:treatB	(Intercept) + poisonII + treatC + poisonII:treatC	(Intercept) + poisonII + treatD + poisonII:treatD
	I	(Intercept)	(Intercept) + treatB	(Intercept) + treatC	(Intercept) + treatD
		A	B	C	D
		treat			

We zouden dan het effect van het type gif afzonderlijk moeten bestuderen voor elke behandeling:

1. Voor behandeling A moeten we dan volgende nulhypoteses toetsen:

- II-I: $H_0 : \beta_{II} = 0$
- III-I: $H_0 : \beta_{III} = 0$
- III-II: $H_0 : \beta_{III} - \beta_{II} = 0$

2. Voor behandeling B:

- II-I: $H_0 : \beta_{II} + \beta_{II:B} = 0$
- III-I: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:B} = 0$
- III-II: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:B} - \beta_{II} - \beta_{II:B} = 0$

3. Voor behandeling C:

- II-I: $H_0 : \beta_{II} + \beta_{II:C} = 0$
- III-I: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:C} = 0$
- III-II: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:C} - \beta_{II} - \beta_{II:C} = 0$

4. Voor behandeling D:

- II-I: $H_0 : \beta_{II} + \beta_{II:D} = 0$
- III-I: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:D} = 0$

- III-II: $H_0 : \beta_{III} + \beta_{III:D} - \beta_{II} - \beta_{II:D} = 0$

Het zelfde geldt wanneer we het effect van de behandeling bestuderen:

1. Voor gif I toetsen we dan nulhypothese

- B-A: $H_0 : \beta_B = 0$
- C-A: $H_0 : \beta_C = 0$
- D-A: $H_0 : \beta_D = 0$
- C-B: $H_0 : \beta_C - \beta_B = 0$
- D-B: $H_0 : \beta_D - \beta_B = 0$
- D-C: $H_0 : \beta_D - \beta_C = 0$

2. Gif II

- B-A: $H_0 : \beta_B + \beta_{II:B} = 0$
- C-A: $H_0 : \beta_C + \beta_{II:C} = 0$
- D-A: $H_0 : \beta_D + \beta_{II:D} = 0$
- C-B: $H_0 : \beta_C + \beta_{II:C} - \beta_B - \beta_{II:B} = 0$
- D-B: $H_0 : \beta_D + \beta_{II:D} - \beta_B - \beta_{II:B} = 0$
- D-C: $H_0 : \beta_D + \beta_{II:D} - \beta_C - \beta_{II:C} = 0$

3. Gif III

- B-A: $H_0 : \beta_B + \beta_{III:B} = 0$
- C-A: $H_0 : \beta_C + \beta_{III:C} = 0$
- D-A: $H_0 : \beta_D + \beta_{III:D} = 0$
- C-B: $H_0 : \beta_C + \beta_{III:C} - \beta_B - \beta_{III:B} = 0$
- D-B: $H_0 : \beta_D + \beta_{III:D} - \beta_B - \beta_{III:B} = 0$
- D-C: $H_0 : \beta_D + \beta_{III:D} - \beta_C - \beta_{III:C} = 0$

```
comparisonsInt <- glht(rats3, linfct = c(
  "poisonII = 0",
  "poisonIII = 0",
  "poisonIII - poisonII = 0",
  "poisonII + poisonII:treatB = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatB = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatB - poisonII- poisonII:treatB = 0",
  "poisonII + poisonII:treatC = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatC = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatC - poisonII- poisonII:treatC = 0",
  "poisonII + poisonII:treatD = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatD = 0",
  "poisonIII + poisonIII:treatD - poisonII- poisonII:treatD = 0",
  "treatB = 0",
  "treatC = 0",
  "treatD = 0",
  "treatC - treatB = 0",
  "treatD - treatB = 0",
  "treatD - treatC = 0",
  "treatB + poisonII:treatB = 0",
  "treatC + poisonII:treatC = 0",
```

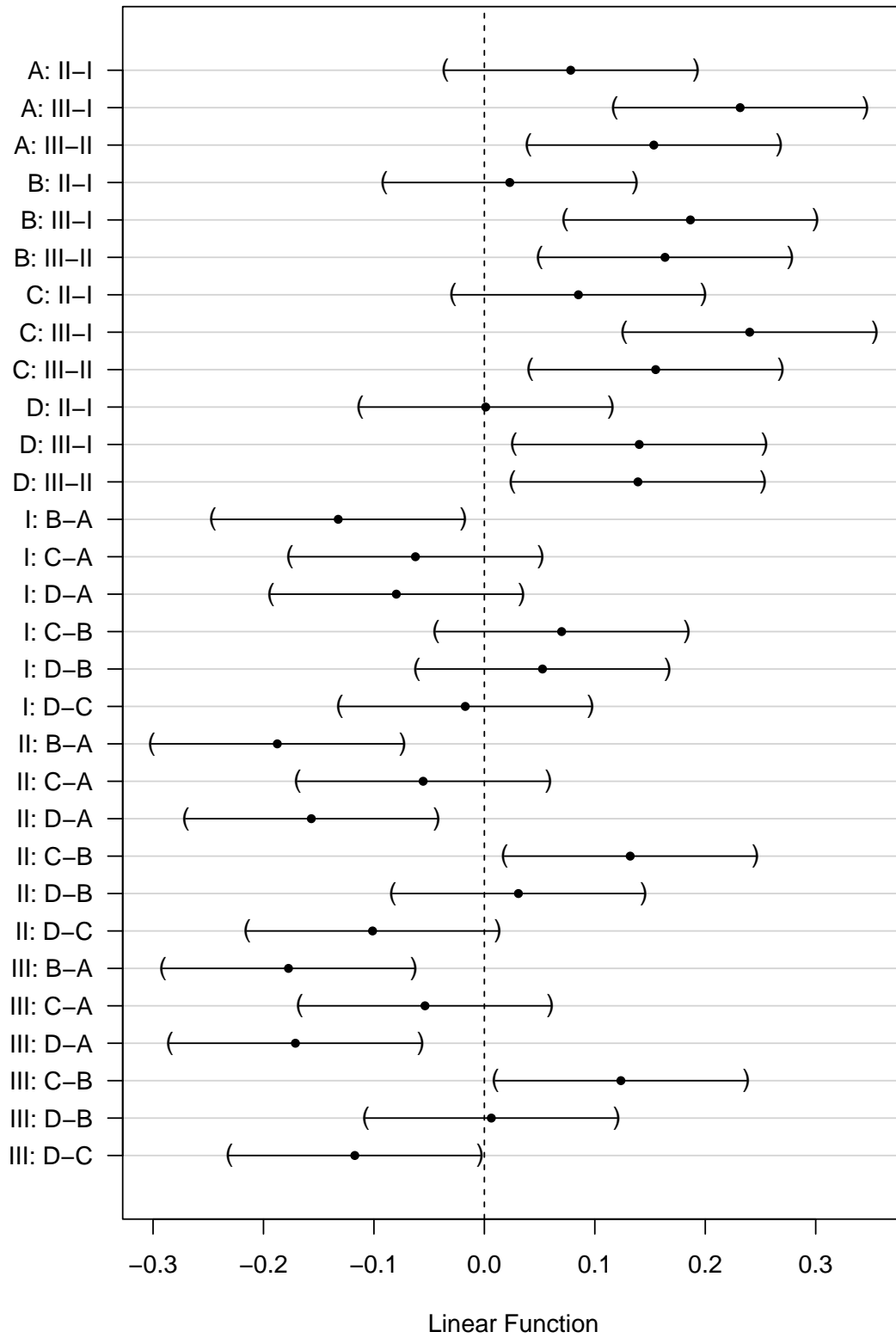
```

"treatD + poisonII:treatD = 0",
"treatC + poisonII:treatC - treatB - poisonII:treatB = 0",
"treatD + poisonII:treatD - treatB - poisonII:treatB = 0",
"treatD + poisonII:treatD - treatC - poisonII:treatC = 0",
"treatB + poisonIII:treatB = 0",
"treatC + poisonIII:treatC = 0",
"treatD + poisonIII:treatD = 0",
"treatC + poisonIII:treatC - treatB - poisonIII:treatB = 0",
"treatD + poisonIII:treatD - treatB - poisonIII:treatB = 0",
"treatD + poisonIII:treatD - treatC - poisonIII:treatC = 0")
)

contrastNames<-
  c(paste(rep(LETTERS[1:4],each=3),rep(apply(combn(c("I","II","III"),2)[2:1,],2,paste,collapse="-"),4)
    paste(rep(c("I","II","III"),each=6),rep(apply(combn(c(LETTERS[1:4]),2)[2:1,],2,paste,collapse="-"))
plot(comparisonsInt,yaxt="none")
axis(2,at=c(length(contrastNames):1), labels=contrastNames,las=2)

```

95% family-wise confidence level



In onze studie was de interactie echter niet significant. Het effect van het gif (II-I, III-I en III- II) verandert dus niet significant volgens de behandeling (A, B, C, en D) en vice versa. Voor onze dataset lijkt het dus zinvol om

1. de effectgrootte voor de pairsgewijze vergelijkingen tussen de verschillende giften (II-I, III-I en III- II) te schatten door ze uit te middelen over alle behandelingen (A, B, C, en D), en,
2. de effectgrootte voor de pairsgewijze vergelijkingen tussen de verschillende behandelingen (B-A, C-A, D-A, C-B, D-B en D-C) te schatten door ze uit te middelen over alle giften (I, II, III).

Dat zou ons gelijkaardige schattingen van de effectgroottes moeten geven als deze voor het additieve model waarbij we de interactie term uit het model hadden geweerd.

B.v. voor gif III vs gif II zou dat in volgende contrast resulteren:

- III-II:

$$H_0 : \frac{\beta_{III} - \beta_{II}}{4} + \frac{\beta_{III} + \beta_{III:B} - \beta_{II} - \beta_{II:B}}{4} + \frac{\beta_{III} + \beta_{III:C} - \beta_{II} - \beta_{II:C}}{4} + \frac{\beta_{III} + \beta_{III:D} - \beta_{II} - \beta_{II:D}}{4} = 0$$

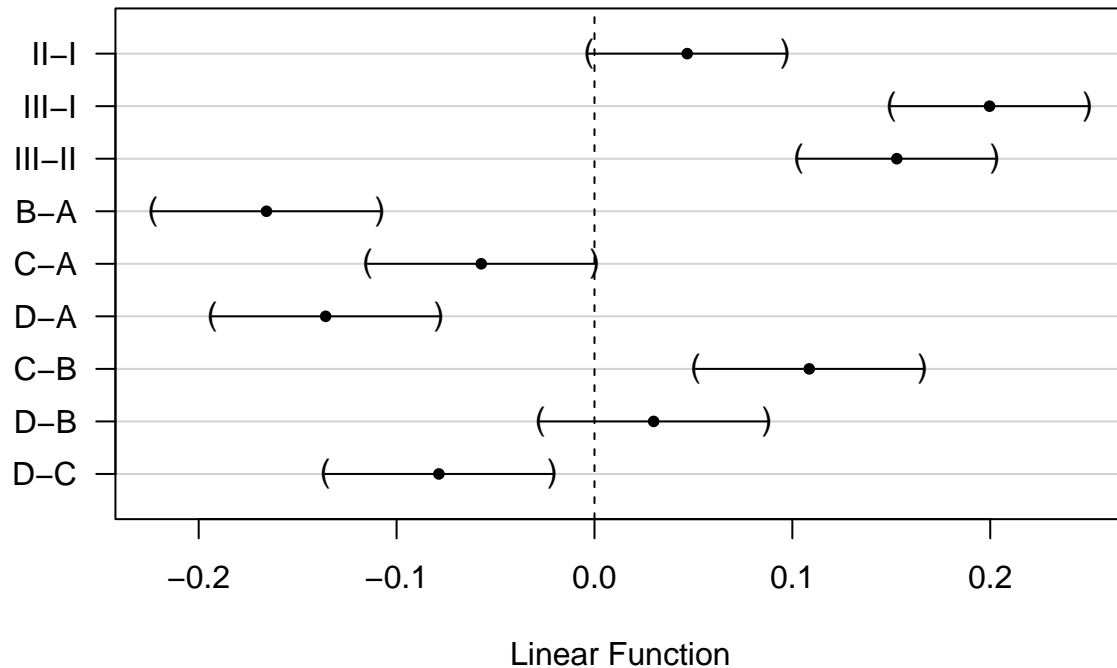
$$H_0 : \beta_{III} + \frac{1}{4} \times \beta_{III:B} + \frac{1}{4} \times \beta_{III:C} + \frac{1}{4} \times \beta_{III:D} - \beta_{II} - \frac{1}{4} \times \beta_{II:B} - \frac{1}{4} \times \beta_{II:C} - \frac{1}{4} \times \beta_{II:D} = 0$$

We schatten met onderstaande code alle gemiddelde contrasten a.d.h.v. het model met interactie.

```
contrasts <- c(
  "poisonII + 1/4*poisonII:treatB + 1/4*poisonII:treatC + 1/4*poisonII:treatD = 0",
  "poisonIII + 1/4*poisonIII:treatB + 1/4*poisonIII:treatC + 1/4*poisonIII:treatD = 0",
  "poisonIII + 1/4*poisonIII:treatB + 1/4*poisonIII:treatC + 1/4*poisonIII:treatD - poisonII - 1/4*poisonII:treatB - 1/4*poisonII:treatC - 1/4*poisonII:treatD = 0",
  "treatB + 1/3*poisonII:treatB + 1/3*poisonIII:treatB = 0",
  "treatC + 1/3*poisonII:treatC + 1/3*poisonIII:treatC = 0",
  "treatD + 1/3*poisonII:treatD + 1/3*poisonIII:treatD = 0",
  "treatC + 1/3*poisonII:treatC + 1/3*poisonIII:treatC - treatB - 1/3*poisonII:treatB - 1/3*poisonIII:treatB = 0",
  "treatD + 1/3*poisonII:treatD + 1/3*poisonIII:treatD - treatB - 1/3*poisonII:treatB - 1/3*poisonIII:treatB = 0",
  "treatD + 1/3*poisonII:treatD + 1/3*poisonIII:treatD - treatC - 1/3*poisonII:treatC - 1/3*poisonIII:treatC = 0"
)

comparisonsInt2 <- glht(rats3, linfct = contrasts
)
plot(comparisonsInt2, yaxt="none")
contrastNames <- c("II-I", "III-I", "III-II", "B-A", "C-A", "D-A", "C-B", "D-B", "D-C")
axis(2, at=c(length(contrastNames):1), labels=contrastNames, las=2)
```

95% family-wise confidence level



De geschatte effectgroottes zijn inderdaad exact gelijk als bij het model zonder interactie omdat het experiment gebalanceerd is.

De standaard errors verschillen wel lichtjes. Dat is het gevolg van de errors die verschillen tussen beiden modellen alsook het aantal vrijheidsgraden van de errors ($n-p$).

```
data.frame(Additive_coef=summary(comparisons)$test$coef, Additive_se=summary(comparisons)$test$sigma, Int
```

	Additive_coef	Additive_se	Int_coef	int_se
poison: II - I	0.047	0.017	0.047	0.017
poison: III - I	0.200	0.017	0.200	0.017
poison: III - II	0.153	0.017	0.153	0.017
treat: B - A	-0.166	0.020	-0.166	0.020
treat: C - A	-0.057	0.020	-0.057	0.020
treat: D - A	-0.136	0.020	-0.136	0.020
treat: C - B	0.109	0.020	0.109	0.020
treat: D - B	0.030	0.020	0.030	0.020
treat: D - C	-0.079	0.020	-0.079	0.020

5 Conclusie

Er is een extreem significant effect van het type gif en de behandeling op de snelheid van sterven bij ratten ($p \ll 0.001$).

De interactie tussen gif en behandeling is niet significant ($p = 0.387$).

De snelheid van sterven is gemiddeld 0.2h^{-1} en 0.15h^{-1} hoger voor ratten die blootgesteld worden aan gif III dan aan respectievelijk gif I en II (beide $p \ll 0.001$, 95% BI III-I: $[0.15, 0.25]\text{h}^{-1}$, 95% BI III-II: $[0.1, 0.2]\text{h}^{-1}$). De gemiddelde snelheid van sterven was niet significant verschillend tussen ratten die werden blootgesteld aan gif I en gif II ($p=0.074$).

De snelheid van sterven is gemiddeld 0.17h^{-1} en 0.14h^{-1} hoger na behandeling A dan na behandeling B en D ($p \ll 0.001$, 95% BI B-A: $[-0.22, -0.11]\text{h}^{-1}$, 95% BI D-A: $[-0.19, -0.08]\text{h}^{-1}$). De snelheid van sterven is gemiddeld 0.11h^{-1} en 0.08h^{-1} hoger na behandeling C dan respectievelijk na behandeling B en D (C-B: $p \ll 0.001$, 95% CI $[0.05, 0.17]\text{h}^{-1}$, D-C: $p = 0.003$, 95% CI $[-0.14, -0.02]\text{h}^{-1}$). De gemiddelde snelheid van sterven is niet significant verschillend tussen ratten behandeld met behandeling C vs A, en D vs B (p -waarden respectievelijk $p = 0.051$ en $p = 0.61$).

Alle p -waarden werden gecorrigeerd voor meervoudig testen.