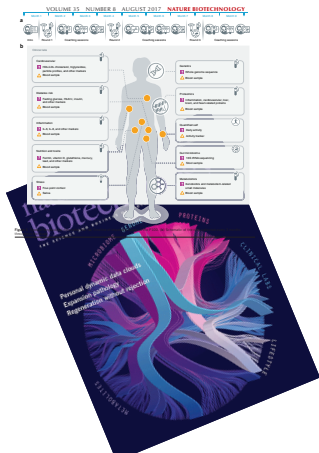


Statistiek in de levenswetenschappen

Lieven Clement

Statistiek: 2^{de} bach. in de Biologie, Biochemie en Biotechnologie,
Biomedische Wetenschappen en Chemie

- In de levenswetenschappen wensen we bij te leren over natuurlijke processen.
- Empirische gegevens vormen een essentieel onderdeel in dit proces.



NATURE METHODS | 14 JULY 2015 | 445

Mass spectrometrists should search only for peptides they care about

William Stafford Noble

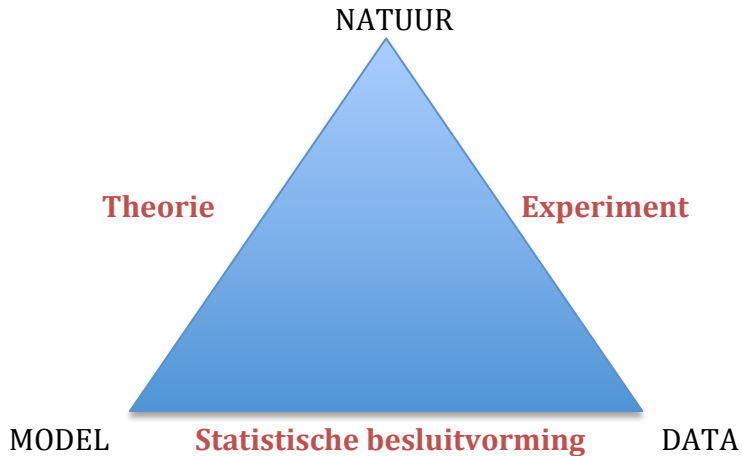
- In de levenswetenschappen wensen we bij te leren over natuurlijke processen.
- Empirische gegevens vormen een essentieel onderdeel in dit proces.



Wetenschappelijke methode

- Wetenschappelijke Methode wordt momenteel algemeen aanvaard om onze wetenschappelijke kennis van de natuur op te bouwen:
- Pijlers: **wetenschappelijke theorie** en **observatie**.
 - Een wetenschappelijke theorie voorspelt hoe een natuurlijk proces zich gedraagt
 - Observaties worden gebruikt om de theorie te bevestigen of te ontkrachten
 - Wetenschappelijke theorie kan nooit bewezen worden door observatie, maar kan wel ontkracht worden door observatie: **falsificatieprincipe**.

Wetenschappelijke methode



- 1 **Natuur**: werkelijkheid waarover men kennis wil verkrijgen
- 2 **Wetenschappelijke theorie/hypothese**: leidt tot model dat een aspect van de natuur beschrijft en een bepaald gedrag van de natuur kan voorspellen
- 3 **Deductie**: Leid toetsbare gevolgen af onder de theorie/hypothese die experimenteel kunnen worden gevalideerd
- 4 **Experiment** worden data uit de natuur gehaald: Data zijn manifestatie van het werkelijke gedrag van de natuur Experiment moet **representatief** en **reproduceerbaar**
- 5 **Statistische Besluitvorming**: brug tussen het wetenschappelijk model en de data. Laat toe op een formele wijze het model te toetsen aan de data en te besluiten in welke mate de theorie/het model/hypothese voor waar mag worden aangenomen.
- 6 **Data exploratie en analyse** kan een aanzet zijn voor het verfijnen of genereren van een nieuwe hypothese

Illustratie: Horizon - Homeopathy the test



- BBC reportage <https://vimeo.com/101005591>
- Fragment 1: 0'00"-6'00": Vraagstelling

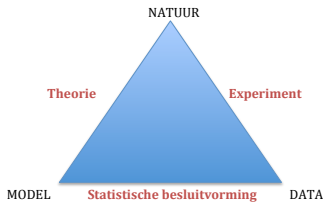
Fragment 2: 7'40"-11'30"

- 1 Eigenaardige bevindingen in lab experimenten
- 2 Nieuwe hypothese: "Memory of Water"
- 3 Deductie: Als een substantie met allergenen sterk worden verdund en heftig worden geschud dan wordt de informatie overgedragen naar het water zodat een reactie kan worden gedetecteerd door de allergietest met gemodificeerde basofiel bij extreem grote verdunningen.
- 4 Zet nieuw experiment op om "Memory of Water"-hypothese te evalueren
- 5 Verken, analyseer en interpreteer de resultaten uit het experiment
- 6 Verspreiden van resultaten

Wetenschappelijke methode

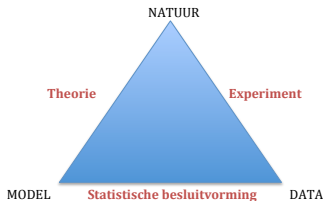
Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis



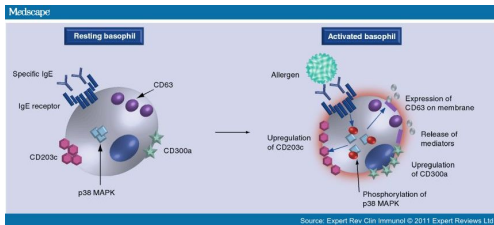
- Werking van Homeopathie
Theorie: “Memory of Water”

Wetenschappelijke methode



Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis

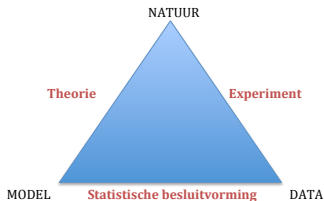
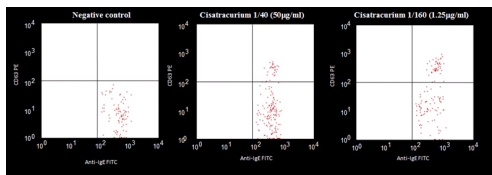


- Werking van Homeopathie Theorie: “Memory of Water”
- Substantie biologisch actief bij ongelooflijk sterke verdunning
- Detectie via diagnostische assay

Wetenschappelijke methode

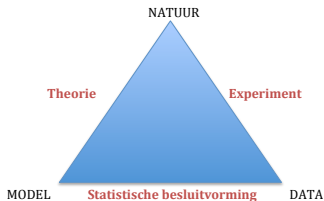
Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis



- Werking van Homeopathie
Theorie: “Memory of Water”
- Substantie biologisch actief bij ongelooflijk sterke verdunning
- Detectie via diagnostische assay

Wetenschappelijke methode



Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis

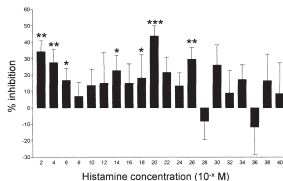


Fig. 1. Effect of histamine on anti-IgE induced expression of CD63 on human basophil membranes. Data are represented as mean \pm SEM for $n=10$. Statistical analysis was performed using the Wilcoxon signed rank test with * = $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

- Werking van Homeopathie
Theorie: “Memory of Water”
- Substantie biologisch actief bij ongelooflijk sterke verdunning
- Detectie via diagnostische assay

- Statistiek levert methoden om te toetsen in welke mate data consistent zijn met een gepostuleerd model: **Statistische Besluitvorming**
- De wijze waarop de data tot stand gekomen is erg belangrijk: **Proefopzet**
- Het experiment moet eigenlijk zo opgezet worden dat het het model uitdaagt en pas als alle moeite gedaan is om te pogen data te bekomen die inconsistent zijn met het model, dan pas kunnen de theorie en het model als waar beschouwd worden: **De uitzondering bevestigt de regel.**
- Wanneer de data inconsistent zijn met het vooropgestelde model, kan direct besloten worden dat het model incorrect is: **Falsificatie Principe**

Statistiek

Statistiek is wetenschap rond verzamelen, exploreren en analyseren van data. Ze laat toe

- tot een goede proefopzet te komen,
- om te leren uit data en
- hierbij variabiliteit en onzekerheid te
 - kwantificeren,
 - controleren en
 - te rapporteren
- d.m.v. statistische besluitvorming modellen op een formele wijze te toetsen aan de data

Ze vervult daarom belangrijke rol in zowat alle wetenschappen. (Zie ondermeer populaire column “points of significance” in Nature Methods.

http://blogs.nature.com/methagora/2013/08/giving_statistics_the_attention_it_deserves.html)

Proefopzet

Wetenschappelijke resultaten dienen reproduceerbaar te zijn

Editorial reservation

READERS of this article may share the incredulity of the many referees who have commented on several versions of it during the past several months. The essence of the result is that an aqueous solution of an antibody retains its ability to evoke a biological response even when diluted to such an extent that there is a negligible chance of there being a single molecule in any sample. There is no physical basis for such an activity. With the kind collaboration of Professor Benveniste, *Nature* has therefore arranged for independent investigators to observe repetitions of the experiments. A report of this investigation will appear shortly.

816

SCIENTIFIC PAPER

NATURE VOL. 333 30 JUNE 1988

Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE

E. Davenas, F. Beauvais, J. Amara*, M. Oberbaum*, B. Robinzon†, A. Miadonna‡, A. Tedeschi‡, B. Pomeranz§, P. Fortner§, P. Belon, J. Sainte-Laudy, B. Poitevin & J. Benveniste||

INSERM U 200, Université Paris-Sud, 32 rue des Carnets, 92140 Clamart, France

* Ruth Ben Ari Institute of Clinical Immunology, Kaplan Hospital, Rehovot 76100, Israel

† Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, PO Box 12, The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot 76100, Israel

‡ Department of Internal Medicine, Infectious Diseases and Immunopathology, University of Milano, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy

§ Departments of Zoology and Physiology, Ramsay Wright Zoological Laboratories, University of Toronto, 25 Harbord Street, Toronto, Ontario M5S 1A1, Canada

|| To whom correspondence should be addressed.

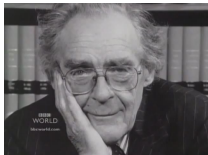
Wetenschappelijke resultaten dienen reproduceerbaar te zijn

Editorial reservation

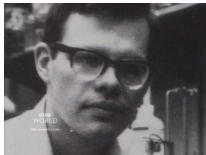
READERS of this article may share the incredulity of the many referees who have commented on several versions of it during the past several months. The essence of the result is that an aqueous solution of an antibody retains its ability to evoke a biological response even when diluted to such an extent that there is a negligible chance of there being a single molecule in any sample. There is no physical basis for such an activity. With the kind collaboration of Professor Benveniste, *Nature* has therefore arranged for independent investigators to observe repetitions of the experiments. A report of this investigation will appear shortly.

Nature editor Sir John Maddox stelde team:

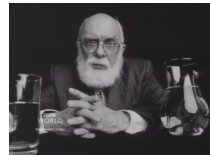
John Maddox
Editor



Walter Stuart
Wetenschapsfraude bestrijder



James Randy
Goochelaar



Fragment: 14'50"-18'56"

7 Reproduceer resultaten

Wat ging er fout?

Fragment: 14'50"-18'56"

7 Reproduceer resultaten

Wat ging er fout?

- Proefopzet!
- Bias kan worden geïntroduceerd als de wetenschapper weet hoe de stalen worden behandeld.

Fragment: 14'50"-18'56"

7 Reproduceer resultaten

Wat ging er fout?

- Proefopzet!
- Bias kan worden geïntroduceerd als de wetenschapper weet hoe de stalen worden behandeld.
- Blinding?

Fragment: 14'50"-18'56"

7 Reproduceer resultaten

Wat ging er fout?

- Proefopzet!
- Bias kan worden geïntroduceerd als de wetenschapper weet hoe de stalen worden behandeld.
- Blinding?
 - Blinding: at random codes toe te wijzen aan de stalen
 - De codes worden gebroken nadat alle data is gecollecteerd
 - Hoe subjectiever de meting hoe belangrijker blinding
- Double blinding?
- Zowel proefpersoon als wetenschapper weten niet welke behandeling er werd gegeven

Fragment: 19'00"-20'30"

- Waarom blijkt homeopathie dan toch mensen te genezen?

Fragment: 19'00"-20'30"

- Waarom blijkt homeopathie dan toch mensen te genezen?
- Het feit dat patiënt verbetert is geen bewijs dat medicijn werkt
- Placebo-effect

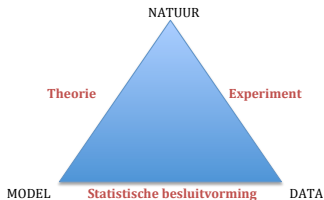
Fragment: 19'00"-20'30"

- Waarom blijkt homeopathie dan toch mensen te genezen?
- Het feit dat patiënt verbetert is geen bewijs dat medicijn werkt
- Placebo-effect
- Placebo-gecontroleerde studies zijn erg belangrijk in biomedische wetenschappen

Fragment: 19'00"-20'30"

- Waarom blijkt homeopathie dan toch mensen te genezen?
- Het feit dat patiënt verbetert is geen bewijs dat medicijn werkt
- Placebo-effect
- Placebo-gecontroleerde studies zijn erg belangrijk in biomedische wetenschappen
- Ethische beperkingen van placebo gebruik?
 - Test behandeling tegen standaardbehandeling
 - Doel aantonen dat nieuwe behandeling op zijn minst evengoed werkt.
- **Belang van een goeie controle!**

Controerse gaat verder



Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis

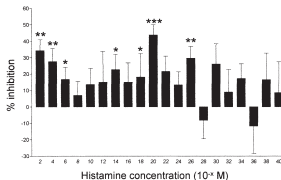
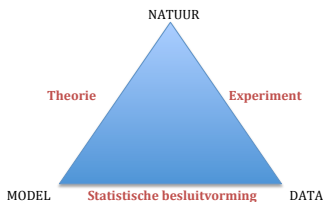


Fig. 1. Effect of histamine on anti-IgE induced expression of CD63 on human basophil membranes. Data are represented as mean \pm SEM for $n=10$. Statistical analysis was performed using the Wilcoxon signed rank test with * $-p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

- Werking van Homeopathie
Theorie: “Memory of Water”

Controerse gaat verder



Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations

V. Brown and M. Ennis

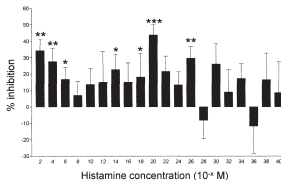


Fig. 1. Effect of histamine on anti-IgE induced expression of CD63 on human basophil membranes. Data are represented as mean \pm SEM for $n=10$. Statistical analysis was performed using the Wilcoxon signed rank test with * $-p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

- Werking van Homeopathie
Theorie: “Memory of Water”
- Substantie biologisch actief bij ongelooflijk sterke verdunning
- Detectie via flowcytometry: meer betrouwbaar

“The Ultimate Test”

The screenshot shows a web browser window with the address bar displaying <http://www.randi.org/research/index.html>. The page header includes navigation links: HOME | COMMENTARY | LECTURES | \$1 MILLION PARANORMAL CHALLENGE | SWIFT | LIBRARY. The main heading is "James Randi Educational Foundation" with the subtitle "an educational resource on the paranormal, pseudoscientific and the supernatural". Below this is the section "One Million Dollar Paranormal Challenge".

The Foundation is committed to providing reliable information about paranormal claims. It both supports and conducts original research into such claims.

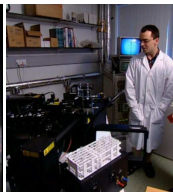
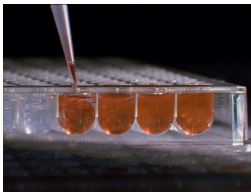
At JREF, we offer a one-million-dollar prize to anyone who can show, under proper observing conditions, evidence of any paranormal, supernatural, or occult power or event. The prize is in the form of negotiable bonds held in a special investment account. The JREF Investment

Fragment 31'00-39'30'' : The ultimate test - proefopzet

- 2 x 5 proefbuizen met verdunning van 5C.
- 5 met actieve stof, 5 met puur water
- 10 tubes worden random gelabeld: blinding
- Na labeling volgt een verdere verdunning tot 18C



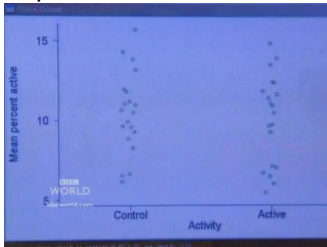
- Herlabelen om alle fraude te voorkomen
- Humane cellen worden toegevoegd
- Nagaan met flowcytometrie hoeveel cellen zijn geactiveerd
- Metingen uitgevoerd in twee onafhankelijke labs
- Labs werd meegedeeld dat er 20 actieve en 20 placebo oplossingen waren om te voorkomen dat alle stalen als niet actief werden geklasseerd.



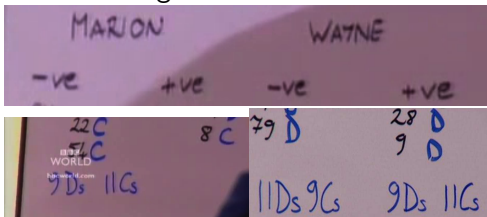
Data exploratie & statistische analyse

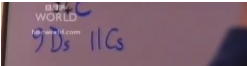
Fragment 39'30-43'00": The ultimate test - data analyse

- Exploratie



- Samenvatting



- lab Marion: negatieve buizen 
- 9 proefbuizen van homeopathische verdunning (D) en 11 van de controles (C) zijn negatief gelabeld
- Omdat onderzoekers wisten dat er 20 actieve proefbuizen (D) en 20 controle proefbuizen (C) waren, weten we ook dat er 11 (D) en 9 (C) stalen als positief werden gelabeld
- Kruistabel

	Negatief	Positief	
Homeopathie (D)	9	11	20
Controle (C)	11	9	20
	20	20	40

Falsificatie-principe

- Het is moeilijk een hypothese te bewijzen: moeilijk aan te tonen dat er een effect van D anders is dan van C.
- We kunnen wel het omgekeerde proberen te ontcrachten: C en D hebben eenzelfde effect
- Als C en D eenzelfde effect hebben verwachten we

	Negatief	Positief	
Homeopathie (D)	10	10	20
Placebo (C)	10	10	20
	20	20	40

- Enerzijds zou men in het experiment een lichte aanwijzing kunnen zien dat homeopathische verdunning actief is: 11/20 stalen werden correct geklasseerd.
- Anderzijds, zou het kunnen dat de 11/20 berust op toeval.

- De random variabiliteit in experiment is ook te zien als we vgl met lab Wayne:

	Negatief	Positief	
Homeopathie	11	9	20
Placebo	9	11	20
	20	20	40

- Als men een experiment herhaalt vindt men zelden exact dezelfde resultaten terug.
- Als er geen effect is van D zal men door toeval toch resultaten vinden die lichtjes afwijken van 10/20.
- Maar hoeveel is “lichtjes”: 11/20? 12/20? 13/20? ...**

- Hoeveel correcte positieve tests x nodig om voldoende bewijskracht te hebben voor werking van D?
- Onderbouwen met kans om ten minste x correcte positieve tests te vinden door zuiver toeval wanneer D niet verschilt van C.

$$p = P(\text{ten minste } x \text{ correcte positieve tests} | \text{effect D} = \text{effect C})$$

- Dergelijke kansen kunnen worden berekend door gebruik te maken van probabiliteitstheorie:

x	p
10	0.62
11	0.38
12	0.17
13	0.056
14	0.013
15	0.002

- Het is erg onwaarschijnlijk om ten minste 15 stalen correct te klasseren als er geen effect is van D ($p=0.002$)
- Bijgevolg zou het observeren van $x = 15$ een sterk bewijs zijn ten gunste van D
- Als er geen verschil is tussen C en D, dan zal men echter in 37.6% van de experimenten door toeval een x observeren van minstens 11
- Het experiment geeft dus absoluut geen bewijs voor de werking van D

“There’s absolutely no evidence at all to say that there is a difference ...”



(M. Bland)

Mogelijke fouten

- Een experiment is onderhevig aan random variabiliteit bijgevolg zijn de conclusies dat ook.
- Zelfs als D en C equivalent kan men 15 correcte positieve resultaten observeren door toeval. Dat kunnen we in 2 op de 1000 experimenten verwachten.
- In dergelijke steekproef zal men ten onrechte besluiten dat er bewijs is voor de werking van D terwijl er in realiteit geen verschil is tussen D en C.
- Intuïtief voelen we aan dat we niet met absolute zekerheid uitspraken kunnen doen over populatiekarakteristieken op basis van een eindige steekproef.

Statistiek

- **Proefopzet**
- **Beschrijvende statistiek:** samenvatten en beschrijven van geobserveerde data zodat relevante aspecten naar voor komen.
- **Statistische besluitvorming:** bestuderen in hoeverre geobserveerde trends/effecten veralgemeend kunnen worden naar de algemene populatie.
- ~~kan gebruikt worden om alles bewijzen~~
- Voor data analyse waarbij onzekerheid
 - gekwantificeerd,
 - gecontroleerd en
 - gerapporteerd wordt



© Mike Bidner / Corbis