Biostatistik, WS 2015/2016

Faktorielle Varianzanalyse und F-Test, sowie etwas zu multiplen Tests

Matthias Birkner

http://www.staff.uni-mainz.de/birkner/Biostatistik1516/

22.1.2016

JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITÄT MAINZ

Erinnerung

Nehmen wir an, wir haben zufällige Stichproben aus 2 Gruppen:

$x_1, x_2, \ldots, x_{n_1}$ n_1 Beobachtungswerte aus Population 1,

$y_1, y_2, \ldots, y_{n_2}$ n_2 Beobachtungswerte aus Population 2

(beispielsweise die Länge von Backenzähnen für zwei Stichproben von zwei verschiedenen Urpferdchen-Arten).

Der (uns unbekannte) wahre Populationsmittelwert ist

μ_1 in Population 1, μ_2 in Population 2.

Frage Ist (angesichts der Beobachtungen) die Annahme

$\mu_1 = \mu_2$ plausibel?

Erinnerung (ungepaarter t-Test)

Gegeben

$x_1, x_2, \ldots, x_{n_1}$ n_1 Beobachtungswerte aus Population 1,

$y_1, y_2, \ldots, y_{n_2}$ n_2 Beobachtungswerte aus Population 2

Um die Nullhypothese

$H_0 : \mu_1 = \mu_2$ d.h. Mittelwerte in beiden Populationen gleich

zu püfen, können wir den ungepaarten t-Test verwenden.

Erinnerung

(zweiseitiger, ungepaarter t-Test, Ann. gleicher Varianzen)

Mit $$\overline{x} = \frac{1}{n_1}\sum_{i=1}^{n_1} x_i,\ \overline{y} = \frac{1}{n_2}\sum_{i=1}^{n_2} y_i,$$

$$s_1^2 = \frac{1}{n_1-1}\sum_{i=1}^{n_1}(x_i-\overline{x})^2,\ s_2^2 = \frac{1}{n_2-1}\sum_{i=1}^{n_2}(y_i-\overline{y})^2$$

(Stichprobenmittelwerte und korrigierte Stichprobenvarianzen),

$$s^2 = \frac{(n_1-1)s_1^2+(n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2}$$

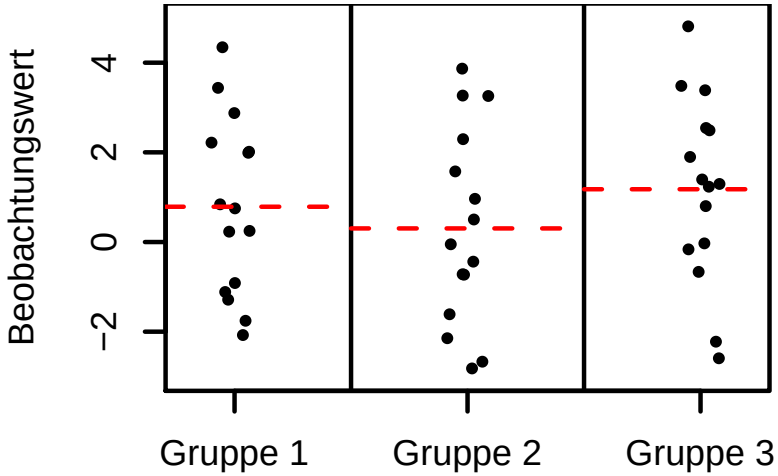
(gepoolte Stichprobenvarianz) berechne $t = \frac{\overline{x}_1-\overline{x}_2}{s\sqrt{\frac{1}{n_1}+\frac{1}{n_2}}}$, lehne $H_0 : \mu_1 = \mu_2$ zum Signifikanzniveau α ab, wenn

$|t| >$ $(1-\frac{\alpha}{2})$-Quantil der t-Verteilung mit n_1+n_2-2 Freiheitsgraden.

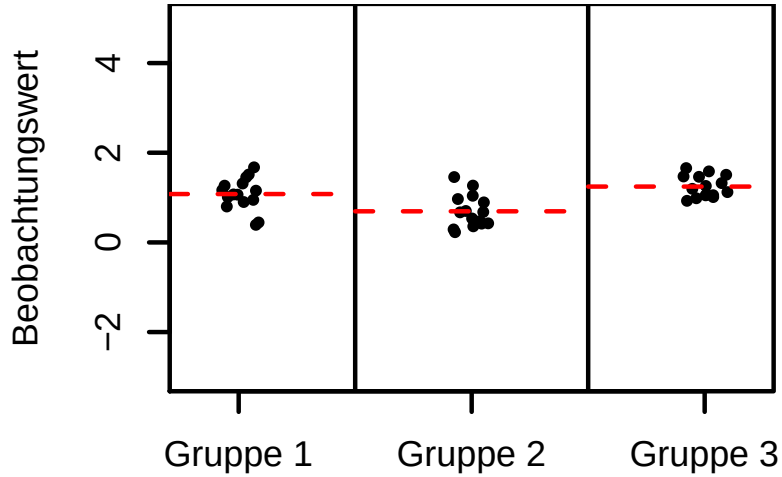
Frage Was tun, wenn mehr als zwei Gruppen vorliegen?

Grundidee der Varianzanalyse

Wir beobachten unterschiedliche Gruppenmittelwerte:



Variabilität innerhalb der Gruppen groß



Variabilität innerhalb der Gruppen klein

Sind die beobachteten Unterschiede der Gruppenmittelwerte ernst zu nehmen — oder könnte das alles Zufall sein?

Das hängt vom Verhältnis der Variabilität der Gruppenmittelwerte und der Variabilität der Beobachtungen innerhalb der Gruppen ab: die Varianzanalyse gibt eine (quantitative) Antwort.

Beispiel: Blutgerinnungszeiten

Blutgerinnungszeit bei Ratten unter 4 versch. Behandlungen

Gruppe	Beobachtung							
1	62	60	63	59				
2	63	67	71	64	65	66		
3	68	66	71	67	68	68		
4	56	62	60	61	63	64	63	59

Globalmittelwert $\overline{x}_{..} = 64$,
Gruppenmittelwerte $\overline{x}_{1.} = 61$, $\overline{x}_{2.} = 66$, $\overline{x}_{3.} = 68$, $\overline{x}_{4.} = 61$.

Bemerkung: Der Globalmittelwert ist in diesem Beispiel auch der Mittelwert der Gruppenmittelwerte. Das muss aber nicht immer so sein!

Beispiel

Blutgerinnungszeit bei Ratten unter 4 versch. Behandlungen

Gr.	$\overline{x}_{i\cdot}$	Beobachtung							
1	61	62	60	63	59				
		$(62-61)^2$	$(60-61)^2$	$(63-61)^2$	$(59-61)^2$				
2	66	63	67	71	64	65	66		
		$(63-66)^2$	$(67-66)^2$	$(71-66)^2$	$(64-66)^2$	$(65-66)^2$	$(66-66)^2$		
3	68	68	66	71	67	68	68		
		$(68-68)^2$	$(66-68)^2$	$(71-68)^2$	$(67-68)^2$	$(68-68)^2$	$(68-68)^2$		
4	61	56	62	60	61	63	64	63	59
		$(56-61)^2$	$(62-61)^2$	$(60-61)^2$	$(61-61)^2$	$(63-61)^2$	$(64-61)^2$	$(63-61)^2$	$(59-61)^2$

Globalmittelwert $\overline{x}_{\cdot\cdot} = 64$,
Gruppenmittelwerte $\overline{x}_{1\cdot} = 61$, $\overline{x}_{2\cdot} = 66$, $\overline{x}_{3\cdot} = 68$, $\overline{x}_{4\cdot} = 61$.

Die roten Werte (ohne die Quadrate) heißen Residuen: die „Restvariabilität“ der Beobachtungen, die das Modell nicht erklärt.

Quadratsumme innerhalb der Gruppen:
$ss_{\text{innerh}} = 112$, 20 Freiheitsgrade
Quadratsumme zwischen den Gruppen:
$ss_{\text{zw}} = 4 \cdot (61-64)^2 + 6 \cdot (66-64)^2 + 6 \cdot (68-64)^2 + 8 \cdot (61-64)^2 = 228$,
3 Freiheitsgrade

$$F = \frac{ss_{\text{zw}}/3}{ss_{\text{innerh}}/20} = \frac{76}{5{,}6} = 13{,}57$$

Beispiel: Blutgerinnungszeit bei Ratten unter 4 versch. Behandlungen

ANOVA-Tafel („ANalysis Of VAriance“)

	Freiheits-grade (DF)	Quadrat-summe (SS)	mittlere Quadrat-summe (SS/DF)	F-Wert
Gruppe	3	228	76	13,57
Residuen	20	112	5,6	

Unter der Hypothese H_0 „die Gruppenmittelwerte sind gleich“
(und einer Normalverteilungsannahme an die Beobachtungen)
ist F Fisher-verteilt mit 3 und 20 Freiheitsgraden,
das 95%-Quantil der $\mathrm{Fisher}_{3,20}$-Verteilung ist 3,098 ($<$ 13,57).

Wir können demnach H_0 zum Signifikanzniveau 5% ablehnen.

(Der p-Wert ist $\mathrm{Fisher}_{3,20}([13{,}57, \infty)) \leq 5 \cdot 10^{-5}$.)

Sir Ronald Aylmer Fisher,
1890–1962

F-Test, allgemein

$n = n_1 + n_2 + \cdots + n_I$ Beobachtungen in I Gruppen,
$X_{ij} = j$-te Beobachtung in der i-ten Gruppe, $j = 1, \ldots, n_i$.
Modellannahme: $X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$,
mit unabhängigen, normalverteilten ε_{ij}, $\mathbb{E}[\varepsilon_{ij}] = 0$, $\mathrm{Var}[\varepsilon_{ij}] = \sigma^2$
(μ_i ist der „wahre“ Mittelwert innerhalb der i-ten Gruppe.)
$\overline{X}_{\cdot\cdot} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{I} \sum_{j=1}^{n_i} X_{ij}$ (empirisches) „Globalmittel“
$\overline{X}_{i\cdot} = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} X_{ij}$ (empirischer) Mittelwert der i-ten Gruppe

$$SS_{\text{innerh}} = \sum_{i=1}^{I} \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \overline{X}_{i\cdot})^2$$

Quadratsumme innerhalb d. Gruppen,
$n - I$ Freiheitsgrade

$$SS_{\text{zw}} = \sum_{i=1}^{I} n_i (\overline{X}_{i\cdot} - \overline{X}_{\cdot\cdot})^2$$

Quadratsumme zwischen d. Gruppen,
$I - 1$ Freiheitsgrade

$$F = \frac{SS_{\text{zw}}/(I-1)}{SS_{\text{innerh}}/(n-I)}$$

F-Test

$X_{ij} = j$-te Beobachtung in der i-ten Gruppe, $j = 1, \ldots, n_i$,
Modellannahme: $X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$. $\mathbb{E}[\varepsilon_{ij}] = 0$, $\mathrm{Var}[\varepsilon_{ij}] = \sigma^2$

$$SS_{\text{innerh}} = \sum_{i=1}^{I} \sum_{j=1}^{n_i} (X_{ij} - \overline{X}_{i\cdot})^2$$

Quadratsumme innerhalb d. Gruppen, $n - I$ Freiheitsgrade

$$SS_{\text{zw}} = \sum_{i=1}^{I} n_i (\overline{X}_{i\cdot} - \overline{X}_{\cdot\cdot})^2$$

Quadratsumme zwischen d. Gruppen, $I - 1$ Freiheitsgrade

$$F = \frac{SS_{\text{zw}}/(I-1)}{SS_{\text{innerh}}/(n-I)}$$

Unter der Hypothese $H_0 : \mu_1 = \cdots = \mu_I$ („alle μ_i sind gleich“) ist F Fisher-verteilt mit $I - 1$ und $n - I$ Freiheitsgraden (unabhängig vom tatsächlichen gemeinsamen Wert der μ_i).

F-Test: Wir lehnen H_0 zum Signifikanzniveau α ab, wenn $F \geq q_\alpha$, wobei q_α das $(1-\alpha)$-Quantil der Fisher-Verteilung mit $I - 1$ und $n - I$ Freiheitsgraden ist.

Tabelle der 95%-Quantile der F-Verteilung

Die folgende Tabelle zeigt (auf 2 Nachkommastellen gerundet) das 95%-Quantil der Fisher-Verteilung mit k_1 und k_2 Freiheitsgraden (k_1 Zähler- und k_2 Nennerfreiheitsgrade)

k_2 \ k_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	161.45	199.5	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	242.98
2	18.51	19	19.16	19.25	19.3	19.33	19.35	19.37	19.38	19.4	19.4
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6	5.96	5.94
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.7
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.1	4.06	4.03
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.6
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.5	3.44	3.39	3.35	3.31
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.1
10	4.96	4.1	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.2	3.09	3.01	2.95	2.9	2.85	2.82
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3	2.91	2.85	2.8	2.75	2.72
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63
14	4.6	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.7	2.65	2.6	2.57
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.9	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46
17	4.45	3.59	3.2	2.96	2.81	2.7	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37
19	4.38	3.52	3.13	2.9	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34
20	4.35	3.49	3.1	2.87	2.71	2.6	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31

Bemerkung: F-Test mit 2 Gruppen $\widehat{=}$ t-Test

Für $I = 2$ Gruppen ist $\overline{X}_{..} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{2}\sum_{j=1}^{n_i} X_{ij} = \frac{n_1}{n_1+n_2}\overline{X}_{1.} + \frac{n_2}{n_1+n_2}\overline{X}_{2.}$

und somit

$\overline{X}_{1.} - \overline{X}_{..} = \frac{n_2}{n_1+n_2}(\overline{X}_{1.} - \overline{X}_{2.})$, $\overline{X}_{2.} - \overline{X}_{..} = \frac{n_1}{n_1+n_2}(\overline{X}_{2.} - \overline{X}_{1.})$, d.h.

$$SS_{\text{zw}} = n_1(\overline{X}_{1.} - \overline{X}_{..})^2 + n_2(\overline{X}_{2.} - \overline{X}_{..})^2 = \frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}(\overline{X}_{1.} - \overline{X}_{2.})^2.$$

Weiter ist

$$SS_{\text{innerh}} = \sum_{j=1}^{n_1}(X_{1j} - \overline{X}_{1.})^2 + \sum_{j=1}^{n_2}(X_{2j} - \overline{X}_{2.})^2 = (n_1 + n_2 - 2)s^2$$

($s^2 = \frac{n_1-1}{n_1+n_2-2}s_1^2 + \frac{n_2-1}{n_1+n_2-2}s_2^2$ ist die gepoolte Stichprobenvarianz)

Insgesamt:

$$F = \frac{SS_{\text{zw}}/1}{SS_{\text{innerh}}/(n_1 + n_2 - 2)} = \frac{(\overline{X}_{1.} - \overline{X}_{2.})^2}{s^2(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})} = T^2$$

Berechnung der Signifikanz mit R

Wie muss man q wählen, damit $\mathbb{P}(F \leq q) = 0.95$ für Fisher(6,63)-verteiltes F?

```
> qf(0.95,df1=6,df2=63)
[1] 2.246408
```

p-Wert-Berechnung: Wie wahrscheinlich ist es, dass eine Fisher(3,20)-verteilte Zufallsgröße einen Wert ≥ 13.57 annimmt?

```
> pf(13.57, df1=3, df2=20, lower.tail=FALSE)
[1] 4.66169e-05
```

Varianzanalyse komplett in R

Die Text-Datei gerinnung.txt enthält eine Spalte “bgz” mit den Blutgerinnungszeiten und eine Spalte “beh” mit der Behandlung (A,B,C,D).

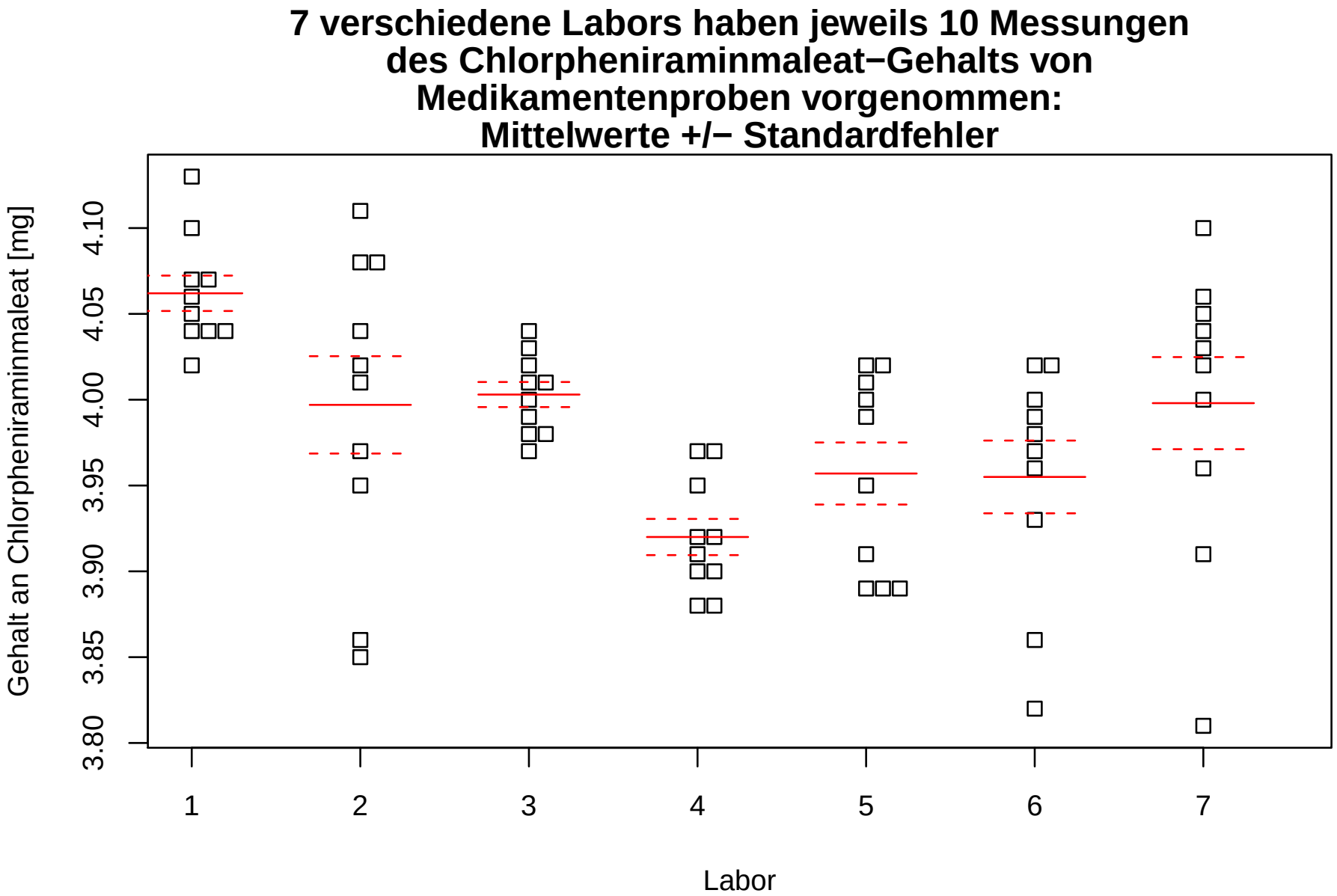
```
> rat<-read.table("gerinnung.txt",header=TRUE)
> rat.aov <- aov(bgz~beh,data=rat)
> summary(rat.aov)
            Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
beh          3    228    76.0  13.571 4.658e-05 ***
Residuals   20    112     5.6
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1
```

Ein weiteres Beispiel

7 verschiedene Labors haben jeweils 10 Messungen des Chlorpheniraminmaleat-Gehalts von Medikamentenproben vorgenommen.

Die Daten liegen in der Datei `chlorpheniraminmaleat.txt` als Tabelle vor:

```
   Gehalt Labor
1  4.13 1
2  4.07 1
3  4.04 1
4  4.07 1
5  4.05 1
6  4.04 1
7  4.02 1
8  4.06 1
9  4.1 1
10 4.04 1
11 3.86 2
12 3.85 2
13 4.08 2
14 4.11 2
15 4.08 2
16 4.01 2
17 4.02 2
18 4.04 2
...
```



Daten aus R.D. Kirchhoefer, Semiautomated method for the analysis of chlorpheniramine maleate tablets: collaborative study, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62(6):1197-1201 (1979),
zitiert nach John A. Rice, *Mathematical statistics and data analysis*, 2nd ed., Wadsworth, 1995

Beachte: Die Labore sind sind mit Zahlen nummeriert. Damit R das nicht als numerische Werte sondern als Nummern der Labore auffasst, müssen wir die Variable “Labor” in einen sog. Factor umwandeln:

```
> chlor <- read.table("chlorpheniraminmaleat.txt")
> str(chlor)
'data.frame': 70 obs. of  2 variables:
 $ Gehalt: num  4.13 4.07 4.04 4.07 4.05 4.04 4.02 4.06 4.1 4
 $ Labor : int  1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 ...
> chlor$Labor <- as.factor(chlor$Labor)
> str(chlor)
'data.frame': 70 obs. of  2 variables:
 $ Gehalt: num  4.13 4.07 4.04 4.07 4.05 4.04 4.02 4.06 4.1 4
 $ Labor : Factor w/ 7 levels "1","2","3","4",..: 1 1 1 1 1 1
```

Nun können wir die Varianzanalyse durchführen:

```
> chlor.aov <- aov(Gehalt~Labor,data=chlor)
> summary(chlor.aov)
            Df  Sum Sq  Mean Sq F value    Pr(>F)
Labor        6 0.12474 0.020789  5.6601 9.453e-05 ***
Residuals   63 0.23140 0.003673
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1
```

In vorigem Beispiel:

Sei μ_i der (uns unbekannte, wahre Populations-)Mittelwert der Messungen aus Labor i, für $i = 1, \ldots, 7$.

Die Varianzanalyse zeigte, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Laboren gibt.

Aber welche Labore unterscheiden sich signifikant?

Wir könnten dazu für jedes Paar i, j von Labors jeweils einen (zwei-Stichproben-)t-Test durchführen, um die Nullhypothese

$$H_{0,(i,j)} : \mu_i = \mu_j$$

(zu einem vorgegebenen Signifikanzniveau α, sagen wir $\alpha = 5\%$) zu testen.

Welche Labore unterscheiden sich signifikant?

Wert der t-Statistik aus paarweisen Vergleichen mittels t-Tests:
[(zweiseitiger) zwei-Stichproben t-Tests mit Annahme gleicher Varianzen]

	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Lab7
Lab1	2.154	4.669	9.632	5.046	4.539	2.227
Lab2		-0.205	2.545	1.189	1.186	-0.026
Lab3			6.470	2.359	2.140	0.180
Lab4				-1.768	-1.478	-2.706
Lab5					0.072	-1.268
Lab6						-1.258

Das 97,5%-Quantil der
t-Verteilung mit 18 Freiheitsgraden ist 2.101,
also würde für die rot markierten Paare (jeweils für sich betrachtet)
ein t-Test $H_{0,(i,j)}$ zum Signifikanzniveau 5% ablehnen.

Welche Labore unterscheiden sich signifikant?

Alternative Darstellung:

p-Werte aus paarweisen Vergleichen mittels *t*-Tests:

[(zweiseitiger) zwei-Stichproben *t*-Tests mit Annahme gleicher Varianzen]

	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Lab7
Lab1	0.04506	0.00019	0.00000	0.00008	0.00025	0.03894
Lab2		0.84000	0.02033	0.24980	0.25103	0.97985
Lab3			0.00000	0.02982	0.04626	0.85929
Lab4				0.09398	0.15662	0.01446
Lab5					0.94356	0.22113
Lab6						0.22459

Erinnerung:

p-Wert = W'keit (unter der Nullhypothese) einen mindestens so extremen Wert der *t*-Statistik wie den beobachteten zu erhalten

[Hier: $2(1 - F_{Student(18)}(|t|))$, mit $F_{Student(18)}$ Verteilungsfunktion der Student-Verteilung mit 18 Freiheitsgraden]

Problem des multiplen Testens

Wir haben $7 \cdot 6 \cdot \frac{1}{2} = 21$ paarweise Vergleiche; auf dem 5%-Niveau zeigen einige davon Signifikanz an.

Wenn die Nullhypothese(n) („alles nur Zufallsschwankungen“) stimmt/en, verwirft man im Schnitt bei 5% der Tests die Nullhypothese zu Unrecht.

Testet man mehr als 20 mal und gelten jeweils die Nullhypothesen, wird man also im Schnitt mehr als eine Nullhypothese zu Unrecht verwerfen.

Dieses Phänomen müssen wir bei multiplen Tests berücksichtigen

(und mit entsprechend angepassten Tests bzw. mit korrigierten *p*-Werten arbeiten).

Eine ganz allgemeine Korrektur für multiples Testen ist die **Bonferroni[1]-Methode**:

Wenn m Tests zum *multiplen Signifikanzniveau* $\alpha \in (0, 1)$ durchgeführt werden sollen,

so führe jeden Test für sich zum *lokalen* Signifikanzniveau $\frac{\alpha}{m}$ durch.

Alternativ bedeutet dies: Multipliziere jeden (individuellen) p-Wert mit der Anzahl m der durchgeführten Tests.

[denn wenn die jeweilige Nullhypthese zutrifft, so ist der p-Wert uniform verteilt in $[0, 1]$]

Dann gilt: Die Wahrscheinlichkeit, dass *irgendeine zutreffende* Nullhypothese zu Unrecht ablehnt wird,

beträgt höchstens α.

[1] Carlo Emilio Bonferroni, 1892–1960

Labor-Vergleichs-Beispiel mit Bonferroni-Korrektur

Wert der t-Statistik aus paarweisen Vergleichen mittels t-Tests:

	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Lab7
Lab1	2.154	4.669	9.632	5.046	4.539	2.227
Lab2		-0.205	2.545	1.189	1.186	-0.026
Lab3			6.470	2.359	2.140	0.180
Lab4				-1.768	-1.478	-2.706
Lab5					0.072	-1.268
Lab6						-1.258

Betrachte $\alpha = 5\%$. Hier $m = 21$, das $(1 - \frac{1}{2}\frac{\alpha}{m})$-Quantil $(1 - \frac{1}{2}\frac{\alpha}{m} = 0.99881)$ der t-Verteilung mit 18 Freiheitsgraden ist 3.532,

also können wir für die rot markierten Paare $H_{0,(i,j)}$ zum multiplen Signifikanzniveau 5% ablehnen.

Labor-Vergleichs-Beispiel mit Bonferroni-Korrektur

Alternativ: $21 \times$ (p-Wert aus paarweisem t-Test)

	Lab2	Lab3	Lab4	Lab5	Lab6	Lab7
Lab1	0.94626	0.00399	0.00000	0.00168	0.00525	0.8177
Lab2		17.64000	0.42693	5.24580	5.27163	20.576
Lab3			0.00000	0.62622	0.97146	18.045
Lab4				1.97358	3.28902	0.3036
Lab5					19.81476	4.6437
Lab6						4.7163

Für die rot markierten Paare ist der korrigierte p-Wert < 0.05.

Bonferroni-Korrektur: Theoretischer Hintergrund

Sei $\alpha \in (0,1)$, es seien m Nullhypothesen $H_{0,1}, H_{0,2}, \ldots, H_{0,m}$ und m Tests $\mathcal{T}_1, \ldots, \mathcal{T}_m$ gegeben mit

$$\mathbb{P}_{H_{0,i}}(\mathcal{T}_i \text{ lehnt } H_{0,i} \text{ ab}) \leq \frac{\alpha}{m}, \quad i = 1, \ldots, m$$

(d.h. wenn $H_{0,i}$ [und ggfs. noch irgendwelche anderen $H_{0,j}$] zutrifft, so wird sie von $\mathcal{T}_i$ nur mit W'keit $\leq \alpha/m$ zu Unrecht abgelehnt).

Eine gewisse Teilmenge $W \subset \{1, 2, \ldots, m\}$ der Nullhypothesen sei wahr. Dann ist

$$\mathbb{P}_{\cap_{i \in W} H_{0,i}}\Big(\text{es gibt ein } j \in W, \text{ so dass } H_{0,j} \text{ von } \mathcal{T}_j \text{ abgelehnt wird}\Big)$$

$$\leq \sum_{j \in W} \mathbb{P}_{H_{0,j}}(\mathcal{T}_j \text{ lehnt } H_{0,j} \text{ ab}) \leq \sum_{j \in W} \frac{\alpha}{m} = |W| \frac{\alpha}{m} \leq \alpha.$$

Nochmal das Ratten-Beispiel: Paarweise Vergleiche (mittels t-Test) für die Blutgerinnungszeiten bei vier verschiedenen Behandlungen, zunächst ohne Korrektur für multiples Testen:

```
  B       C         D
A 0.0147  0.00024   1.00000
B         0.16689   0.00509
C                   0.00010
```

Nun mit Bonferroni-Korrektur (alle Werte mit $\binom{4}{2} = 6$ multiplizieren):

```
  B       C         D
A 0.0882  0.00144   6.00000
B         1.00134   0.03054
C                   0.00060
```

Nach Bonferroni-Korrektur führen folgende Paare von Behandlungen zu jeweils signifikant unterschiedlichen Ergebnissen: A/C, B/D sowie C/D. (Der Bonferroni-korrigierte p-Wert von 6.0 für den Vergleich der Behandlungen A und D ist natürlich nicht als echter p-Wert zu interpretieren.)

Die Bonferroni-Methode ist sehr *konservativ*, d.h. um auf der sicheren Seite zu sein, lässt man sich lieber die eine oder andere Signifikanz entgehen.

Eine Verbesserung der Bonferroni-Methode ist die **Bonferroni-Holm-Methode**:
Ist m die Anzahl der Tests, so multipliziere den kleinsten p-Wert mit m, den zweitkleinsten mit $m-1$, den drittkleinsten mit $m-2$ usw.,

lehne all die Nullhypothesen ab,

$$\text{deren so korrigierter } p\text{-Wert} < \alpha \text{ ist.}$$

Dies ist ein Test aller m Nullhypothesen gleichzeitig zum multiplen Signifikanzniveau α.

Im Ratten-Beispiel:

Unkorrigierte *p*-Werte (aus paarweisen *t*-Tests)

```
  B       C        D
A 0.0147  0.00024  1.00000
B         0.16689  0.00509
C                  0.00010
```

$$0.00010 < 0.00024 < 0.00509 < 0.01470 < 0.16689 < 1.00000$$

p-Werte nach Bonferroni-Holm-Korrektur

	B	C	D
A	$0.0147 \cdot 3 = 0.0441$	$0.00024 \cdot 5 = 0.0012$	$1.0 \cdot 1 = 1.0$
B		$0.16689 \cdot 2 = 0.33378$	$0.00509 \cdot 4 = 0.02036$
C			$0.0001 \cdot 6 = 0.0006$

Wir sehen: Nun sind auf multiplen 5%-Niveau die Paare A/B, A/C, B/C und C/D signifikant verschieden.

Übrigens:

In R gibt des den Befehl `p.adjust`, der *p*-Werte für multiples Testen korrigiert und dabei defaultmäßig die Bonferroni-Holm-Korrektur verwendet:

```
> pwerte <- c(0.01470, 0.00024, 0.16689, 1.00000,
+  0.00509, 0.00010)
> pwerte
[1] 0.01470 0.00024 0.16689 1.00000 0.00509 0.00010

> p.adjust(pwerte)
[1] 0.04410 0.00120 0.33378 1.00000 0.02036 0.00060
> p.adjust(pwerte, method="bonferroni")
[1] 0.08820 0.00144 1.00000 1.00000 0.03054 0.00060
```

Übrigens, 2:

Für paarweise *t*-Tests gibt es ebenfalls eine R-Funktion, die per default die Bonferroni-Holm-Korrektur verwendet:

```
> pairwise.t.test(rat$bgz,rat$beh,
+                 pool.sd=FALSE,var.equal=TRUE)

Pairwise comparisons using t tests with non-pooled SD

data:  rat$bgz and rat$beh

  A       B       C
B 0.04410 -       -
C 0.00121 0.33378 -
D 1.00000 0.02036 0.00059

P value adjustment method: holm
```

Übrigens, $2\frac{1}{2}$:

Wenn man keine *p*-Wert-Korrektur wünscht, kann man sie im R-Befehl `pairwise.t.test` mit dem Zusatzparameter `p.adjust.method='none'` explizit ausschalten.

```
> pairwise.t.test(rat$bgz,rat$beh,
+  pool.sd=FALSE,var.equal=TRUE, p.adjust.method="none")

Pairwise comparisons using t tests with non-pooled SD

data:  rat$bgz and rat$beh

  A       B       C
B 0.01470 -       -
C 0.00024 0.16689 -
D 1.00000 0.00509 9.9e-05

P value adjustment method: none
```

Bonferroni-Holm-Korrektur: Theoretischer Hintergrund

Gegeben m Nullhypothesen $H_{0,1}, H_{0,2}, \ldots, H_{0,m}$
und m Tests $\mathcal{T}_1, \ldots, \mathcal{T}_m$, P_i sei der p-Wert aus dem i-ten Test
($\mathcal{T}_i$ ist ein gültiger Test für $H_{0,i}$, d.h. $\mathbb{P}_{H_{0,i}}(P_i \leq u) \leq u$ für $u \in [0,1]$).

Seien

$$P_{(1)} < P_{(2)} < \cdots < P_{(m)}$$

die der Größe nach sortierten p-Werte und
$H_{0,(1)}, H_{0,(2)}, \ldots, H_{0,(m)}$ die entsprechend umsortierten Hypothesen, $\alpha \in (0,1)$.

Wenn

$$mP_{(1)}, (m-1)P_{(2)}, \ldots, (m-\ell-1)P_{(\ell)} < \alpha \leq (m-\ell)P_{(\ell+1)}$$

gilt, so lehne $H_{0,(1)}, H_{0,(2)}, \ldots, H_{0,(\ell)}$ (zum multiplen Niveau α ab)
(und behalte $H_{0,(\ell+1)}, \ldots, H_{0,(m)}$ bei).

Bonferroni-Holm-Korrektur: Theoretischer Hintergrund

Sei $W \subset \{1, \ldots, m\}$ (mit $|W| = k$, sagen wir) und die Nullhypothesen $H_{0,i}$, $i \in W$ seinen wahr.

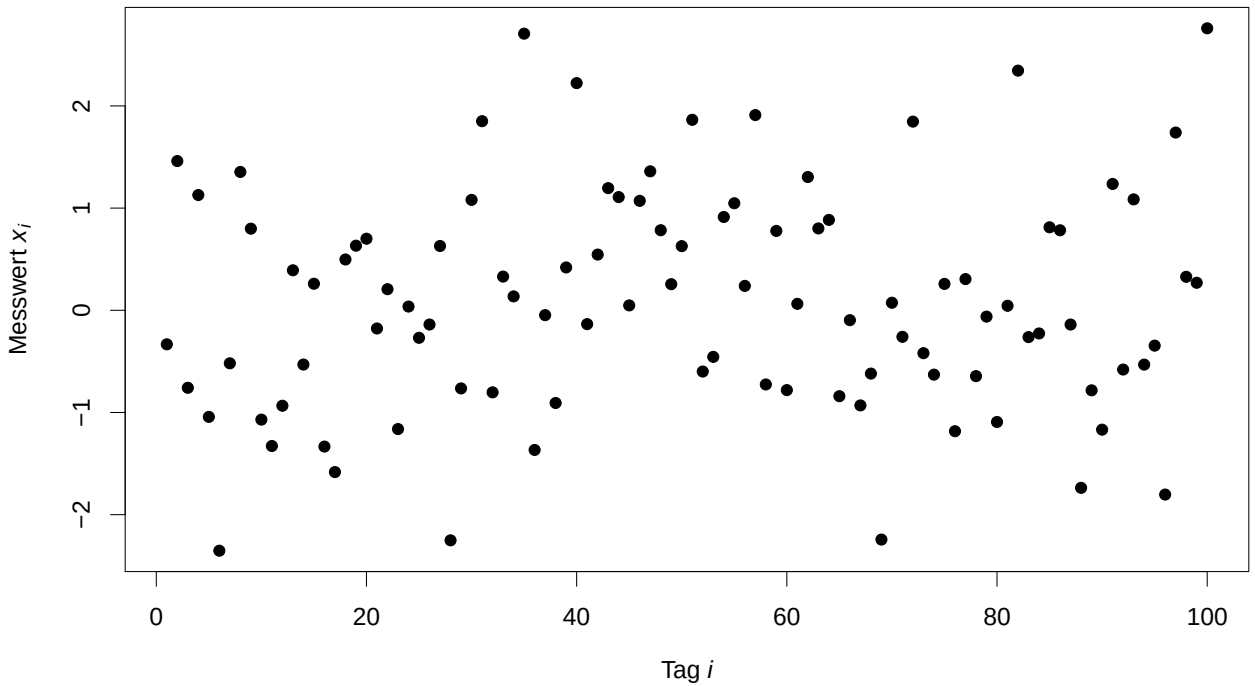
Es gilt $\bigcap_{i \in W} \left\{ P_i > \frac{\alpha}{k} \right\} \subset \left\{ P_{(\, m-(k-1)\,)} > \frac{\alpha}{k} \right\}$,
insbesondere stoppt das Verfahren dann in Schritt $\ell \leq m - k + 1$ und alle $H_{0,i}$, $i \in W$ werden akzeptiert.

Weiter ist

$$\mathbb{P}_{\cap_{i \in W} H_{0,i}} \left(\bigcap_{i \in W} \left\{ P_i > \tfrac{\alpha}{k} \right\} \right) = 1 - \mathbb{P}_{\cap_{i \in W} H_{0,i}} \left(\bigcup_{i \in W} \left\{ P_i \leq \tfrac{\alpha}{k} \right\} \right)$$
$$\geq 1 - \sum_{i \in W} \mathbb{P}_{H_{0,i}} \left(P_i \leq \tfrac{\alpha}{k} \right) \geq 1 - \sum_{i \in W} \frac{\alpha}{k} = 1 - \alpha.$$

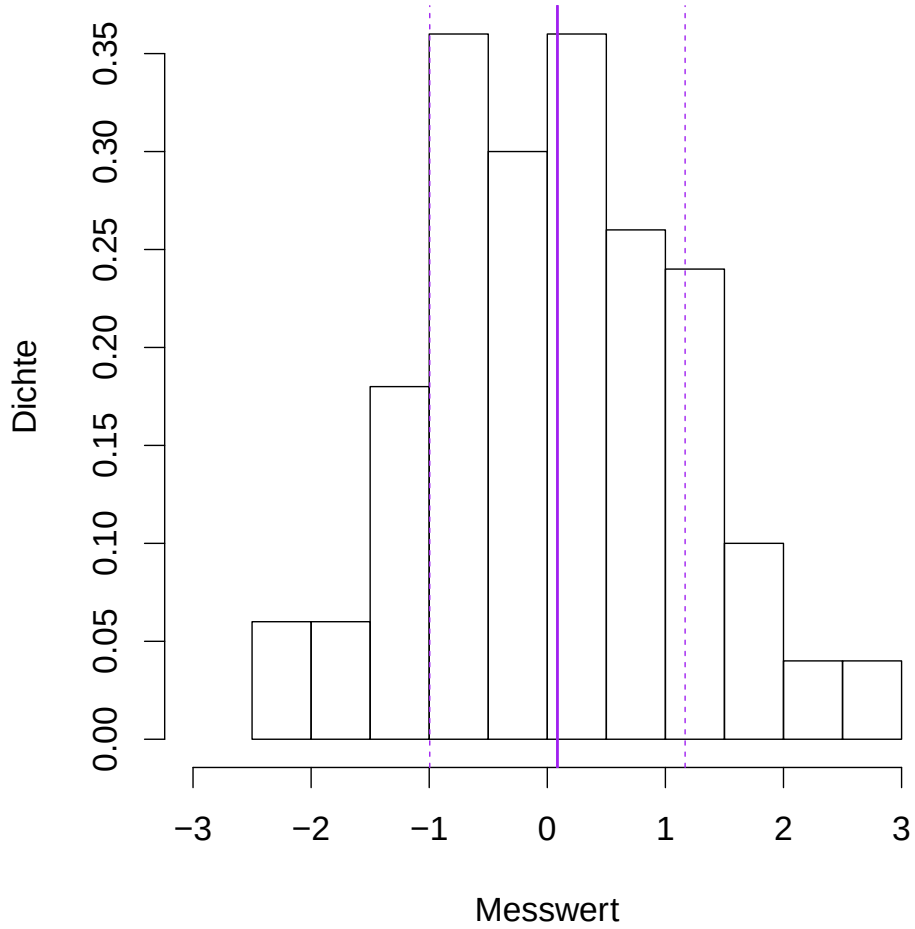
Ein simuliertes Experiment

Ein Versuch werde an $n = 100$ aufeinanderfolgenden Tagen unabhängig unter identischen Bedingungen wiederholt,
x_i = Messergebnis am i-ten Tag



(unter der Nullhypothese $\mu = 0$ simulierte Daten, d.h. es gibt in Wirklichkeit keinen Effekt)

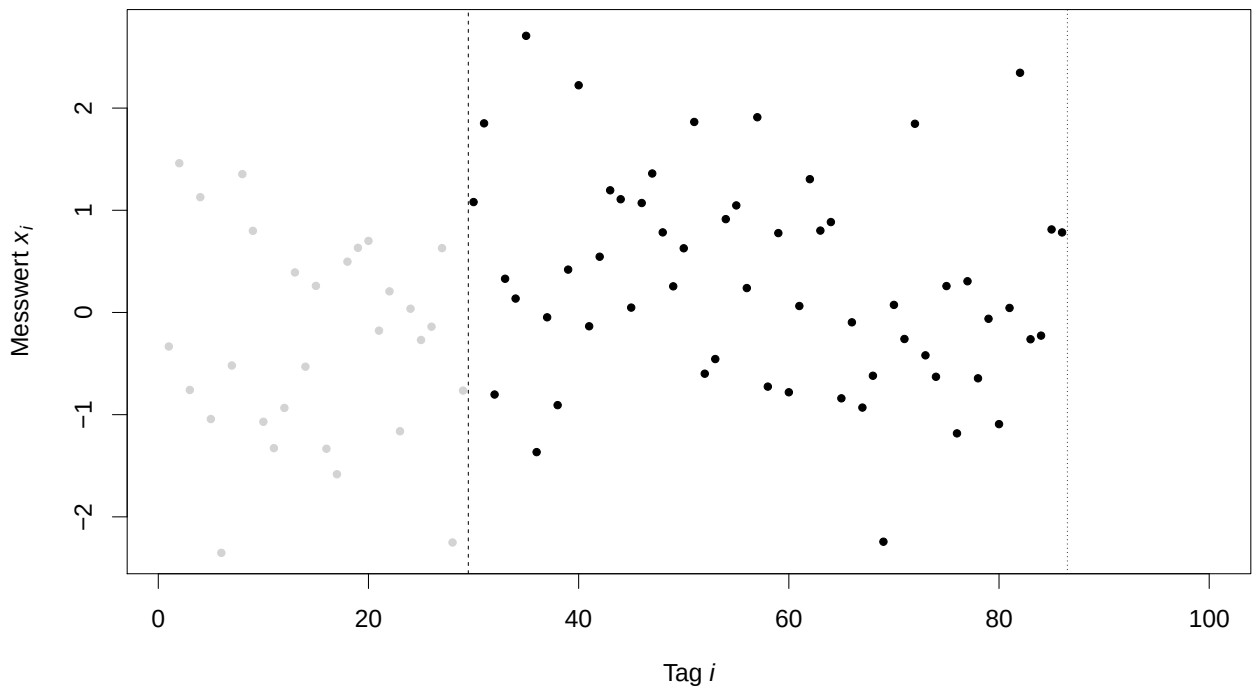
Ein simuliertes Experiment



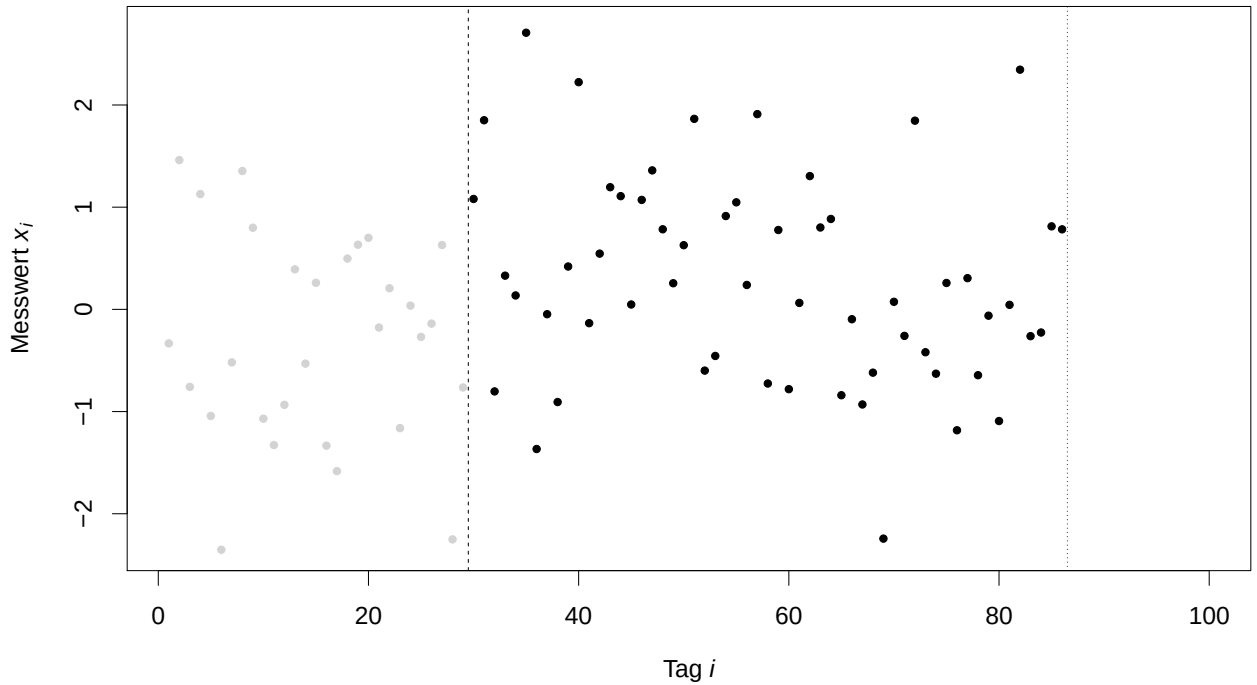
$n = 100$, $\overline{x} = 0.086$, $s/\sqrt{n} = 0.108$, $t = 0.794$, p-Wert ist 0.43 (zweiseitiger t-Test)

„Aufhören, wenn es gut aussieht“

Der Experimentator überlegt am Tag 86:
Der Monat erste war noch eine Übungs- und Kalibrierungsphase,
ich lasse einmal die ersten 29 Beobachtungen weg und schaue, was ich dann bis jetzt so habe (57 Beobachtungen)



„Aufhören, wenn es gut aussieht“

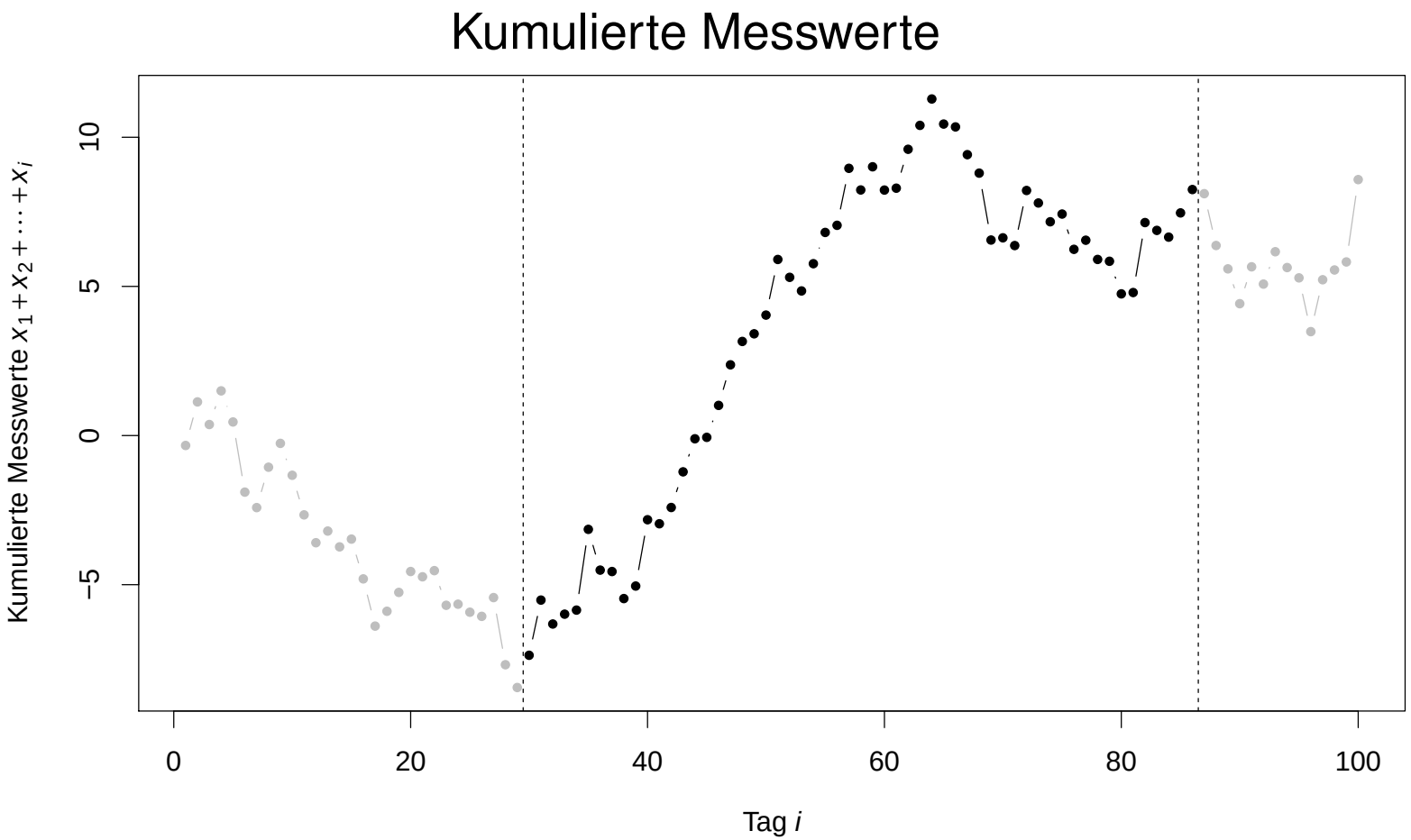


Mit den $n = 57$ Messwerten $x_{30}, x_{31}, \ldots, x_{85}, x_{86}$ ergibt sich $\overline{x} = 0.293$, $s = 1.021$, $s/\sqrt{n} = 0.135$, $t = 2.167$, p-Wert ist 0.035 (zweiseitiger t-Test)

Demnach: Wir sehen scheinbar eine signifikante Abweichung von der 0?

Was ist hier passiert?

„Aufhören, wenn es gut aussieht?!“



Problem des multiplen Testens

Wenn wir den Beginn und die Länge der „richtigen“ Versuchsreihe nicht im vorhinein festlegen, haben wir ein multiples Testproblem vorliegen:

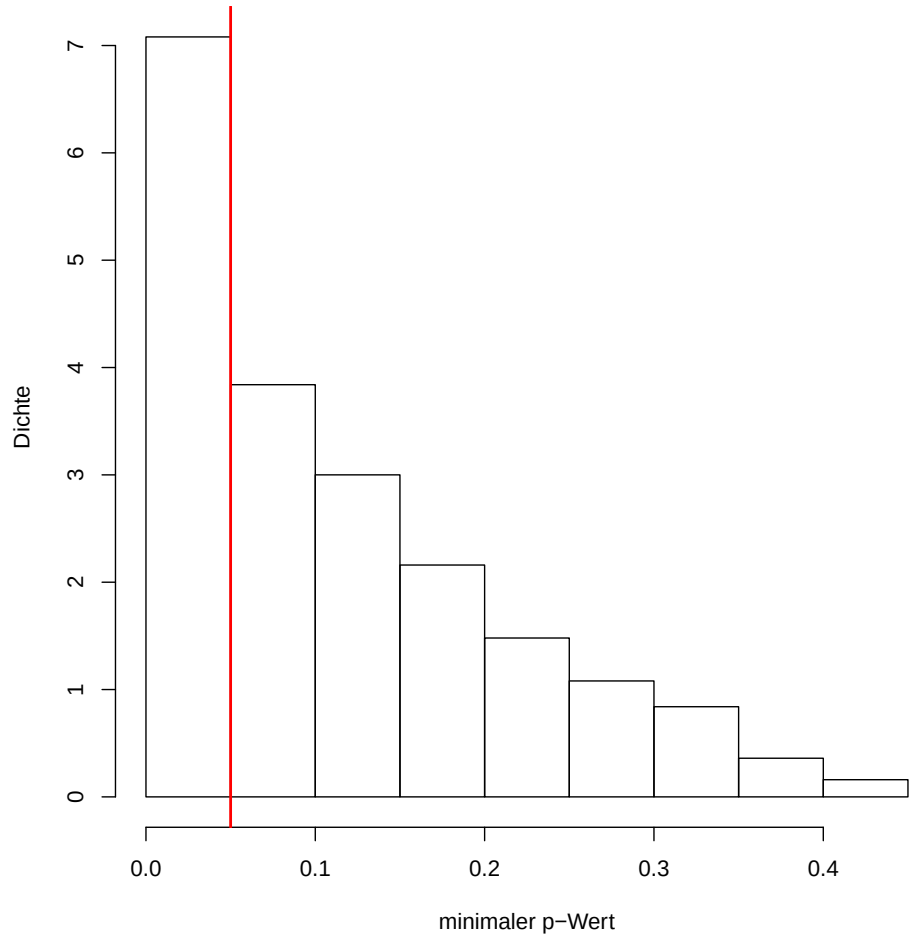
Angenommen, an jedem Tag $i = 50, 51, \ldots, 100$ geht der Experimentator die $i - 50 + 1$ möglichen Messreihen

$$
\begin{aligned}
&x_1, x_2, \ldots, x_{i-1}, x_i \\
&x_2, x_3, \ldots, x_{i-1}, x_i \\
&\vdots \\
&x_{i-50+1}, x_{i-50+2} \ldots, x_{i-1}, x_i
\end{aligned}
$$

der Länge ≥ 50, die mit dem heutigen Tag enden, durch und führt mit jeder davon einen (zweiseitigen ein-Stichproben) t-Test zur Nullhypothese $\mu = 0$ aus.

Problem des multiplen Testens

Dann wurden insgesamt $1 + 2 + \cdots + 51 = \frac{51 \cdot 52}{2} = 1326$ Tests ausgeführt. Wie wahrscheinlich ist es, dass mindestens einer einen p-Wert < 0.05 liefert?



500 simulierte Versuchsreihen

W’keit, dass mindestens einer der Tests anschlägt ≈ 0.35.

Die einfaktorielle Varianzanalyse basiert auf der Annahme, dass die gemessenen Werte unabhängig und normalverteilt sind. Die Mittelwerte $\mu_1, \mu_2, \ldots, \mu_m$ können verschieden sein (das herauszufinden ist Ziel des Tests), aber die Varianzen innerhalb der verschiedenen Gruppen müssen gleich sein.

In Formeln: Ist X_{ij} die j-te Messung in der i-ten Gruppe, so muss gelten

$$X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij},$$

wobei alle ε_{ij} unabhängig $\mathcal{N}(0, \sigma^2)$-verteilt sind, mit demselben σ^2 für alle Gruppen!

Die zu testende Nullhypothese ist $\mu_1 = \mu_2 = \cdots = \mu_m$.

Nicht jede Abweichung von der Normalverteilung stellt ein Problem dar.

Die Anova ist aber nicht robust gegenüber Ausreißern bzw. Verteilungen, die seltene extrem große Werte liefern.

In diesem Fall kann man den **Kruskal-Wallis-Test** verwenden, der wie der Wilcoxon-Test die *Ränge* statt der tatsächlichen Werte verwendet. Es handelt sich also um einen *nicht-parameterischen Test*, d.h. es wird keine bestimmte Wahrscheinlichkeitsverteilung vorausgesetzt.

Nullhypothese des Kruskal-Wallis-Tests: alle Werte X_{ij} kommen aus derselben Verteilung, unabhängig von der Gruppe.

Grundvoraussetzung ist auch beim Kruskal-Wallis-Test, dass die Werte unabhängig voneinander sind.

- Sei R_{ij} der Rang von X_{ij} innerhalb der Gesamtstichprobe.
- Sei

$$\overline{R}_{i.} = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij}$$

der durchschnittliche Rang in Gruppe i, wobei n_i die Anzahl der Messungen in Gruppe i ist.

- Der mittlere Rang der Gesamtstichprobe ist

$$\overline{R}_{..} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{I} \sum_{j=1}^{n_i} R_{ij} = \frac{n+1}{2},$$

wobei I die Anzahl der Gruppen ist und n der Umfang der Gesamtstichprobe.

- Unter der Nullhypothese haben die mittleren Ränge der Gruppen denselben Erwartungswert $R_{..}$.

- Die Abweichung von dieser Erwartung kann man messen mit der Teststatistik

$$S = \sum_{i=1}^{I} n_i \cdot (\overline{R}_{i.} - \overline{R}_{..})^2.$$

- Um aus S einen p-Wert zu erhalten, muss man die Verteilung von S unter der Nullhypothese kennen. Diese kann man für verschiedene I und n_I in Tabellen finden.
- Für $I \geq 3$ und $n_i \geq 5$ sowie $I > 3$ und $n_i \geq 4$ kann man ausnutzen, dass die folgende Skalierung K von S approximativ χ^2-verteilt ist mit $I - 1$ Freiheitsgraden:

$$K = \frac{12}{n \cdot (n+1)} S = \frac{12}{n \cdot (n+1)} \cdot \left(\sum_{i=1}^{I} n_i \cdot \overline{R}_{i.}^2 \right) - 3 \cdot (n+1)$$

Kruskal-Wallis-Test mit R

```
> kruskal.test(bgz~beh,data=rat)

Kruskal-Wallis rank sum test

data:  bgz by beh
Kruskal-Wallis chi-squared = 17.0154, df = 3,
                                    p-value = 0.0007016

> kruskal.test(Gehalt~Labor,data=chlor)

Kruskal-Wallis rank sum test

data:  Gehalt by Labor
Kruskal-Wallis chi-squared = 29.606, df = 6,
                                   p-value = 4.67e-05
```