Comparaciones múltiples

Guillermo Ayala Gallego

2024-04-09

Table of contents

Comparaciones múltiples

- Una formulación ($i = 1, \dots, N$):
  - H_i: El gen i **no tiene** una **expresión diferencial** entre las condiciones consideradas.
  - K_i: El gen i **tiene** una **expresión diferencial** entre las condiciones consideradas.
- Quizás es mejor:

- H_i: La expresión del gen i no tiene asociación con la condición.
- K_i: La expresión del gen i tiene asociación con la condición.

Benjamini and Hochberg (1995)

Hipótesis nula	No rechazadas	Rechazadas	Total
Verdadera	U	V	N_0
Falsa	T	S	$N - N_0 = N_1$
Total	N - R	R	N

- ¿Qué conocemos? Solamente la variable R y el número de hipótesis N.

Tasas de error

FWER: Family wise error rate

- Se define como:
$$FWER = P(V > 0) = P(V \geq 1).$$
- Es la tasa de error de uso clásico en Estadística.
- Correcta para un número pequeño de hipótesis.
- Es un criterio muy exigente si tenemos un número de hipótesis muy grande.

- Notemos que nos fijamos en cometer al menos un error cuando con frecuencia tendremos decenas de miles de contrastes.

- Como (mala) contrapartida muchos genes que tienen una expresión diferencial realmente no serán detectados.

FDR: false discovery rate

- O tasa de falsamente rechazados
- Definimos: $Q = \frac{V}{R}$ si $R > 0$ y $Q = 0$ en otro caso.
- Proporción de tests erróneamente rechazados.
-
$$FDR = E(Q) = E\left(\frac{V}{R}\middle| R > 0\right) P(R > 0).$$

- Una modificación importante: **pFDR** (Positive false discovery rate)

$$pFDR = E\left(\frac{V}{R}\middle| R > 0\right).$$

Relación entre las tasas de error tipo I

- Se verifican las siguientes desigualdades:

$$FDR \leq FWER.$$

p-valor ajustado

- Para cada contraste H_i tendremos un p-valor p_i.
- Podemos contrastar el contraste H_i con un nivel de significación α_i rechazando la hipótesis nula H_i si $p_i \leq \alpha_i$ y no rechazando en otro caso.
- Cuando consideramos simultáneamente todos los tests los valores α_i serán distintos y por ello tendríamos que ir comprobando si la desigualdad $p_i \leq \alpha_i$ se verifica o no.
- La idea del p-valor ajustado es transformar el p-valor p_i en otro valor $\tilde{p}_i$, el i-ésimo p-valor ajustado, de modo que sean equivalentes:

  $$p_i \leq \alpha_i$$

  y

  $$\tilde{p}_i \leq \alpha$$

  siendo α el valor que especificamos para controlar alguna de las tasas de error tipo I.

Método de Bonferroni

- Rechazamos H_i si

  $$p_i \leq \frac{\alpha}{N}.$$

- El p-valor ajustado sería:

  $$\tilde{p}_i = \min\{Np_i, 1\}$$

- Rechazamos H_i si

  $$\tilde{p}_i \leq \alpha.$$

Método de Benjamini-Hochberg

1. Fijamos la tasa de error α.
2. Para cada i (gen) aplicamos un test y obtenemos un p-valor p_i.
3. Ordenamos los p-valores
$$p_{r_1} \leq ... \leq p_{r_N}.$$
4. Sea
$$i^* = \max\{i : p_{r_i} \leq \frac{i}{N}\alpha\}$$
5. Rechazamos H_{r_i} para $i = 1, ..., i^*$.
6. Si no existe i^* entonces no rechazamos ninguna hipótesis.

Método de Benjamini y Yekutieli

- Como en el anterior, $p_{r_1} \leq ... \leq p_{r_N}$ son los p-valores originales ordenados.
- Los p-valores ajustados se definen como
$$\tilde{p}_{r_i} = \min_{k=i,...,N} \left\{ \min \{ \frac{N \sum_{j=1}^{N} 1/j}{k} p_{r_k}, 1 \} \right\}.$$

Lo aplicamos con dos grupos

- Leemos datos.

```
pacman::p_load(Biobase)
data(gse21942,package="tamidata")
y = pData(gse21942)[,"FactorValue..DISEASE.STATE."]
head(exprs(gse21942))
```

```
          GSM545846.CEL GSM545845.CEL GSM545844.CEL GSM545843.CEL GSM545842.CEL
1007_s_at      6.701185      6.770585      6.896115      6.913170      7.055230
1053_at        6.904241      7.160595      6.986157      7.252437      6.820581
117_at         8.347887      8.309832      8.042841      7.973542      7.905076
121_at         7.527261      7.732676      7.534203      7.582493      7.624345
1255_g_at      2.741237      2.785420      2.705875      2.712574      2.874974
1294_at        8.512001      8.697264      8.471296      8.609792      8.932694
          GSM545841.CEL GSM545840.CEL GSM545839.CEL GSM545838.CEL GSM545837.CEL
1007_s_at      7.090447      7.161786      6.990521      7.143398      7.019538
1053_at        6.983571      6.801948      7.131738      6.941465      6.829286
117_at         7.656960      7.661755      8.849415      7.781422      7.431034
```

```
121_at         7.462491      7.757673      7.771086      7.728931      7.507087
1255_g_at      2.731671      3.032517      2.957291      2.908258      2.801843
1294_at        8.466908      8.613721      8.996203      8.312664      8.444103
           GSM545836.CEL GSM545835.CEL GSM545834.CEL GSM545833.CEL GSM545832.CEL
1007_s_at      7.263345      7.183820      7.068422      7.018434      7.134651
1053_at        7.227540      6.779245      7.141372      6.908670      7.484561
117_at         8.128334      7.638504      8.336013      8.466568      8.495304
121_at         7.604226      7.721856      7.660064      7.735517      7.514174
1255_g_at      2.949537      2.747506      2.634829      2.995889      2.631472
1294_at        9.093238      9.048817      9.141685      8.805013      8.557823
           GSM545831.CEL GSM545830.CEL GSM545829.CEL GSM545828.CEL GSM545827.CEL
1007_s_at      7.164015      7.079536      6.879690      6.577880      6.928483
1053_at        6.997132      6.890387      7.179972      7.303770      7.410144
117_at         8.036675      8.228937      7.237569      8.042661      8.141817
121_at         7.553159      7.623796      7.507285      7.698743      7.696693
1255_g_at      2.708215      2.840438      2.723045      2.651039      2.906055
1294_at        8.761252      8.737342      8.528587      8.587533      8.761697
           GSM545826.CEL GSM545825.CEL GSM545824.CEL GSM545823.CEL GSM545822.CEL
1007_s_at      6.653279      6.900510      6.436211      7.008971      6.834951
1053_at        7.120752      7.109658      7.085381      7.046270      7.324719
117_at         8.033017      7.955324      8.457568      7.863781      7.965000
121_at         7.522826      7.725928      7.733425      7.846924      7.534118
1255_g_at      2.803210      2.889357      2.781139      2.868890      2.632601
1294_at        8.669705      8.470591      8.596620      8.660778      8.730843
           GSM545821.CEL GSM545820.CEL GSM545819.CEL GSM545818.CEL
1007_s_at      6.747209      7.052194      6.785745      6.715101
1053_at        7.176329      7.224084      7.369654      7.277721
117_at         7.776154      7.825469      8.342164      7.998972
121_at         7.443340      7.714347      7.434026      7.699178
1255_g_at      2.947213      2.765574      2.898040      2.709309
1294_at        8.648626      8.640482      8.730575      8.606553
```

```
dim(gse21942)
```

```
Features  Samples
   54675       29
```

- Aplicamos los t-tests para cada gen.

```
tt = genefilter::rowttests(gse21942,y)
head(tt)
```

```
            statistic          dm     p.value
1007_s_at -2.29869931 -0.15981906 0.029492008
1053_at    3.44084102  0.20940361 0.001901206
117_at    -0.08505071 -0.01110444 0.932848609
121_at    -0.53362792 -0.02274832 0.597965094
1255_g_at -1.01536731 -0.04339509 0.318943716
1294_at   -1.05030996 -0.07873761 0.302886126
```

- Los p-valores originales los guardamos en p0.

```
p0 = tt$p.value
head(p0)
```

```
[1] 0.029492008 0.001901206 0.932848609 0.597965094 0.318943716 0.302886126
```

o bien

```
p0 = tt[,"p.value"]
```

Con un nivel de significación de $\alpha = 0.01$ tendríamos el siguiente número de características significativas.

```
table(p0<=.01)
```

```
FALSE  TRUE
44014 10661
```

- Utilizamos el método de Benjamini-Hochberg.

```
p.BH = p.adjust(p0,method = "BH")
```

- Los p-valores ajustados son los siguientes

```
View(cbind(p0,p.BH))
head(p.BH)
```

```
[1] 0.11049371 0.01513959 0.96675733 0.76778314 0.53372043 0.51746083
```

```r
table(p.BH<.01)
```

```
FALSE  TRUE
48702  5973
```

q-valor

Definición

- Propuesto por Storey (2002)
- Si consideramos un test determinado nos da la proporción esperada de falsos positivos en la que incurrimos cuando declaramos significativo ese test.

Estimación del q-valor

- Fijamos un valor t y consideremos que rechazamos H_i cuando $P_i \leq t$.
- Definimos:

$$V(t) = |\{P_i : P_i \leq t; H_i \text{ es cierta}; i = 1, \ldots, N\}|$$

y

$$R(t) = |\{P_i : P_i \leq t; i = 1, \ldots, N\}|$$

- pFDR se puede aproximar con

$$E\left[\frac{V(t)}{R(t)}\right] \approx \frac{EV(t)}{ER(t)}.$$

- Estimamos

$$\hat{R}(t) = |\{p_i : p_i \leq t\}|$$

- Además

$$EV(t) = N_0 t.$$

- Estimamos $\pi_0 = N_0/N$ con

$$\hat{\pi}_0 = \frac{|\{p_i : p_i > \lambda; i = 1, \ldots, N\}|}{N(1-\lambda)}.$$

- Podemos pues estimar pFDR con

$$\widehat{pFDR} = \frac{\hat{\pi}_0 N t}{|\{p_i : p_i \leq t\}|}.$$

- El q-valor asociado a un contraste sería el mínimo valor de pFDR que se alcanza cuando el contraste es rechazado.
- El q-valor asociado al test i-ésimo sería

$$q(p_i) = \min_{t \geq p_i} pFDR(t)$$

y su estimador sería

$$\hat{q}(p_i) = \min_{t \geq p_i} \widehat{pFDR}(t).$$

q-valor y datos tamidata::gse21942

- Calculamos p-valores originales.

```
tt = genefilter::rowttests(gse21942,
                           pData(gse21942)[,"FactorValue..DISEASE.STATE."])
pvalue = tt$p.value
```

- Calculamos los q-valores

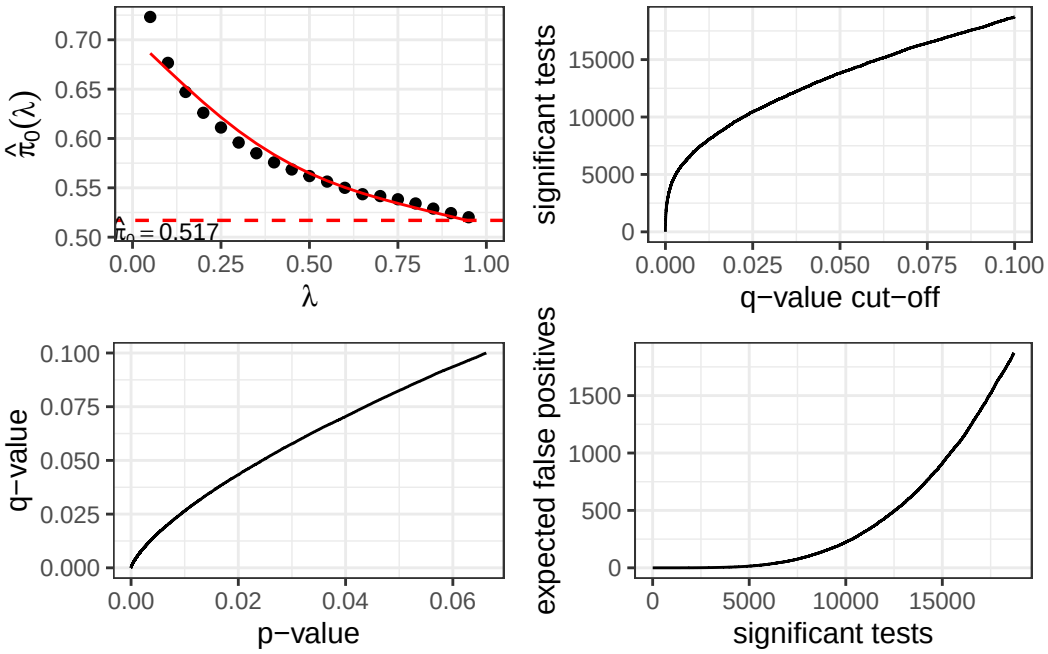
```
library(qvalue)
aa = qvalue(pvalue)
```

- Si simplemente queremos los q-valores los obtenemos con

```
q.value = qvalue(pvalue)$qvalues
```

Dibujos asociados al q-valor

```
plot(aa)
```


$\hat{\pi}_0(\lambda)$
0.70
0.65
0.60
0.55
0.50
$\hat{\pi}_0 = 0.517$
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
λ
significant tests
15000
10000
5000
0
0.000
0.025
0.050
0.075
0.100
q−value cut−off
q−value
0.100
0.075
0.050
0.025
0.000
0.00
0.02
0.04
0.06
p−value
expected false positives
1500
1000
500
0
0
5000
10000
15000
significant tests