

SOLUCIÓN AL PROBLEMA DE BEHRENS-FISHER EN EL ANOVA DE UN
FACTOR USANDO EL TEST DE CORRECCIÓN MODIFICADO DE
BARTLETT

Tesis de Maestría

AUTOR: Ana Lucía García Vargas
Código: 41944493

DIRECTOR: Ph.D. Gladys Elena Salcedo Echeverry

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
MAESTRÍA EN ENSEÑANZA DE LA MATEMÁTICA
PEREIRA, 2016.

Agradecimientos

A YHWH por bendecirme con todos los medios necesarios para culminar esta etapa.

A mi esposo Juan y a la pequeña Gaby por todo su apoyo, amor y comprensión durante estos años de estudio.

A la profesora Gladys Elena Salcedo Echeverry por su tiempo, paciencia y orientación.

A los profesores Nestor Ivan Cardona y Jorge Enrique Gómez Marín del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío por su asesoría y la disposición de los datos de la aplicación.

A mis compañeros de la maestría Anghela, Jhon Faber y Andrés Mauricio por el apoyo incondicional en las largas jornadas de estudio que llevaron a crear lazos de amistad.

Resumen

Esta tesis estudia la solución al problema de Behrens-Fisher(BF) en el caso del ANOVA de un factor utilizando cuatro estadísticos de prueba propuestos por Welch(1951), Krishnamoorthy, Lu y Mathew (2007), Wald (1935) y Fujikoshi(2000). Esto se hace mediante un análisis teórico y un estudio de simulación donde se estiman y comparan el tamaño nominal y la potencia de los cuatro estadísticos de prueba. También se realiza una aplicación de estos cuatro estadísticos a un conjunto de datos de expresiones de unas proteínas llamadas interleuquinas medidas en 38 pacientes, 20 colombianos y 18 americanos, clasificados por diferentes tipos de Toxoplasmosis.

Índice general

Índice de tablas	11
1. Introducción	13
1.1. Planteamiento del problema	13
1.2. Justificación	14
1.3. Objetivo General	14
1.4. Objetivos Específicos	15
1.5. Metodología	15
1.6. Organización de la tesis	16
2. Generalidades teóricas	17
2.1. Algunas distribuciones continuas paramétricas	18
2.1.1. Distribución Normal univariada	18
2.1.2. Distribución Normal multivariada	18

2.1.3.	Distribución Chi-cuadrado	19
2.1.4.	Distribución t de Student	20
2.1.5.	Distribución F	21
2.2.	Convergencia en Distribución	22
2.3.	Ordenes de magnitud	22
2.3.1.	Orden de magnitud de sucesiones de números reales	23
2.3.2.	Orden de magnitud de sucesiones de variables aleatorias	23
2.4.	Análisis de Varianza de un factor	24
3.	El problema de BF en el ANOVA de un factor	31
3.1.	Una breve revisión al problema BF	31
3.1.1.	Caso univariado	32
3.1.2.	Caso multivariado	35
3.1.3.	Estadístico T^2 de Hotelling	36
3.2.	El problema de Behrens-Fisher (BF) para a tratamientos	37
3.2.1.	Estadístico de Welch	38
3.2.2.	Estadístico Paramétrico tipo Bootstrap	38
3.2.3.	Estadístico de Wald	40
3.2.4.	Estadístico Modificado de Bartlett (MB)	46

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	9
4. Estudio de simulación	49
5. Aplicación	55
5.1. Análisis de la proteína Interleuquina IL17	59
5.2. Análisis de la proteína Interleuquina IL5	60
6. Conclusiones y trabajos futuros	61
7. Apéndice 1	63
7.1. Prueba del Teorema 1	63
7.2. Prueba del Teorema 2	64
7.3. Prueba del Teorema 3	66
7.4. Prueba del Teorema 4	66
8. Apéndice 2	67
9. Referencias Bibliográficas	71

Índice de tablas

2.1. Datos de un diseño balanceado de un factor	25
2.2. Datos de un diseño desbalanceado de un factor	25
4.1. Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 2 tratamientos .	50
4.2. Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 3 tratamientos .	52
4.3. Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 5 tratamientos .	53
4.4. Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 10 tratamientos	54
5.1. Resumen estadístico de los datos de la proteína IL17	59
5.2. <i>p</i> -valores de los estadísticos de prueba para la proteína IL17	59
5.3. Resumen estadístico de los datos de la proteína IL5	60
5.4. <i>p</i> -valores de los estadísticos de prueba para la proteína IL5	60
8.1. Expresiones de interleuquina IL17 para 38 pacientes de toxoplasmosis . .	68
8.2. Expresiones de interleuquina IL5 para los 20 pacientes Colombianos . . .	69

Capítulo 1

Introducción

1.1. Planteamiento del problema

El problema de Behrens-Fisher se presenta al comparar las medias o vectores medios de varias poblaciones normales sin asumir la igualdad de las varianzas o matrices de covarianza de las poblaciones normales. Este problema ha llamado la atención desde hace décadas, ya que los procedimientos clásicos tales como la prueba t , la prueba F , o el estadístico T^2 de Hotelling pueden fallar, especialmente bajo el contexto del ANOVA de un factor.

En particular, en aquellas investigaciones donde se utiliza el ANOVA de un factor, es decir, el modelo estadístico llamado Análisis de Varianza, en la que se comparan dos o más medias pertenecientes a unos grupos generados de un proceso de diseño experimental completamente aleatorizado, se suele dar por hecho la presencia o satisfacción de los supuestos de normalidad y no heterocedasticidad de los residuales. Sin embargo, en muchas situaciones no se satisfacen dichos supuestos.

El problema de Behrens-Fisher va mas allá de la presencia de heterocedasticidad en la comparación de dos o más medias. Se trata puntualmente del desconocimiento de la varianza de cada uno de los grupos.

Varias soluciones aproximadas han sido propuestas, como la prueba de Welch (1951), la prueba de segundo orden de James (1954), la prueba F generalizada de Weerahandi (1995), la prueba Bootstrap Paramétrica (PB) de Krishnamoorthy, Lu y Mathew (2007), entre otras.

Esta tesis es de aplicabilidad en la enseñanza de los cursos de diseño de experimentos a nivel universitario, por ejemplo, en programas de Estadística, Biología, Química, Medicina, Agronomía, entre otros, donde la investigación de base es de tipo experimental.

En este trabajo se analizará el problema de Behrens-Fisher por medio de simulaciones y aplicaciones de datos reales, comparando dichos resultados con las existentes soluciones aproximadas al problema de Behrens-Fisher.

1.2. Justificación

En el diseño experimental de un factor (o más), es natural que la variable respuesta se separe en dos o más grupos dependiendo de los niveles del factor, y cuyo objetivo del análisis es hacer la comparación estadística de las medias de dichos grupos, específicamente se trata de contrastar la hipótesis nula de igualdad de medias de los distintos niveles del factor. Cuando en este proceso se detecta que no se sabe nada sobre las varianzas poblacionales de donde proceden los datos de cada uno de los grupos, se está bajo el problema de Behrens-Fisher. Adicionalmente, el supuesto del Análisis de Varianza de igualdad de varianzas no se satisface.

1.3. Objetivo General

Comparar cuatro estadísticos de prueba para el problema de Behrens-Fisher en el contexto del modelo ANOVA heterocedástico de un factor.

1.4. Objetivos Específicos

- Mostrar casos específicos donde no se satisface el supuesto de homocedasticidad en el Análisis de Varianza de un factor.
- Describir cuatro estadísticos de prueba para el problema de Behrens-Fisher en el contexto del modelo ANOVA heterocedástico de un factor propuestos por Welch(1951), Krishnamoorthy, Lu y Mathew (2007), Wald (1935) y Fujikoshi(2000).
- Mostrar un estudio de simulación en el cual se estiman el tamaño nominal y la potencia de los 4 estadísticos de prueba.
- Implementar un código computacional y una aplicación donde se ilustra el problema de Behrens-Fisher en el caso del ANOVA de un factor.

1.5. Metodología

El trabajo se inicia con una revisión bibliográfica que busca reconocer los aportes de otros autores alrededor del tema planteado. Ésta utiliza las bases de datos de textos especializados que ofrecen algunas páginas de Internet, como también artículos de revistas indexadas en el área de matemática y estadística.

Luego se describe en detalle el Análisis de varianza de un factor y particularmente el problema de la heterocedasticidad. Seguidamente es necesario plantear el problema de Behrens-Fisher en su componente histórico y analítico, mostrando las diferentes aproximaciones que se han desarrollado para su solución.

El componente principal de este trabajo será la solución del problema de Behrens-Fisher en el caso específico del ANOVA de un factor, utilizando cuatro estadísticos de prueba. Esto se hace mediante un análisis teórico y un estudio de simulación donde se estiman y comparan el tamaño nominal y la potencia de los cuatro estadísticos de prueba. Los programas computacionales se hacen en R.

1.6. Organización de la tesis

Este documento está organizado en la siguiente forma: En el Capítulo 2 se presentan algunos conceptos de fundamentación teórica y se presenta en detalles el ANOVA de un factor y la distribución exacta del estadístico de prueba bajo supuestos de normalidad y homocedasticidad. En el Capítulo 3 se presenta el problema de Behrens-Fisher en su componente histórico y analítico y se presentan cuatro estadísticos de prueba para el problema de Behrens-Fisher en el contexto del modelo ANOVA heterocedástico de un factor. En el Capítulo 4 se presenta un estudio de simulación en el cual se estiman el tamaño y la potencia de los estadísticos de prueba descritos en el Capítulo 3. En el Capítulo 5 se hace una aplicación a un conjunto de datos reales en la cual se comparan la expresiones de unas proteínas llamadas interleuquinas, medidas en 38 pacientes, 20 colombianos y 18 americanos, con diferentes tipos de Toxoplasmosis. Finalmente, en el Capítulo 6 se presentan algunas conclusiones.

Capítulo 2

Generalidades teóricas

En este capítulo se introducen algunos conceptos de fundamentación teórica para el conocimiento del comportamiento distribucional de los estadísticos de prueba discutidos en la solución del problema de Behrens-Fisher.

Sea $\mathbf{Y} = (Y_1, \dots, Y_p)'$ un vector aleatorio definido sobre el espacio de probabilidad $(\Omega, \mathcal{F}, \mathcal{P})$, \mathbf{Y} tiene distribución absolutamente continua y función de densidad $f_{\mathbf{Y}}(y_1, \dots, y_p)$, si $f_{\mathbf{Y}}$ verifica

i) $f_{\mathbf{Y}}(y_1, \dots, y_p) \geq 0$, para todo $(y_1, \dots, y_p) \in R^p$.

ii) $\int_{R^p} f_{\mathbf{Y}}(y_1, \dots, y_p) dy_1 \dots dy_p = 1$.

Conocida $f_{\mathbf{Y}}(y_1, \dots, y_p)$ se puede encontrar la función de densidad marginal de cada variable aleatoria Y_j , $j = 1, 2, \dots, p$, mediante la integral

$$f_j(y_j) = \int_{R^{p-1}} f_{\mathbf{Y}}(y_1, \dots, y_j, \dots, y_p) dy_1 \dots dy_{j-1} dy_{j+1} \dots dy_p.$$

Además de la distribución conjunta del vector aleatorio \mathbf{Y} , se define el vector de medias $\boldsymbol{\mu}$ como

$$\boldsymbol{\mu} = (E(Y_1), \dots, E(Y_p))'$$

donde $E(Y_j)$ es la esperanza de la variable marginal Y_j , y la matriz de varianzas y covarianzas $\Sigma = (\sigma_{ij})$, siendo $\sigma_{ij} = \text{cov}(Y_i, Y_j)$, $\sigma_{ii} = \text{var}(Y_i)$. Teniendo en cuenta que el j -ésimo elemento de la matriz $(\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})(\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})'$, de orden $p \times p$, es del tipo $(Y_i - \mu_i)(Y_j - \mu_j)$ y que $\text{cov}(Y_i, Y_j) = E(Y_i - \mu_i)(Y_j - \mu_j)$, la matriz de varianzas y covarianzas $\Sigma = (\sigma_{ij})$ es definida como

$$\Sigma = E[(\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})(\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})'].$$

2.1. Algunas distribuciones continuas paramétricas

A continuación se definen cinco distribuciones continuas de gran utilidad en la estadística paramétrica, especialmente porque a partir de ellas se construyen algunas distribuciones de muestreo en el contexto de las pruebas de hipótesis.

2.1.1. Distribución Normal univariada

Una variable aleatoria Y , con $E(Y) = \mu$ y $\text{Var}(Y) = \sigma^2$, está normalmente distribuida, si su función de densidad está dada por

$$f_Y(y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sqrt{\sigma^2}} e^{-(y-\mu)^2/2\sigma^2}, \quad -\infty < y < \infty. \quad (2.1)$$

En este caso, se dice que Y se distribuye $N(\mu, \sigma^2)$ y se denota $Y \sim N(\mu, \sigma^2)$.

2.1.2. Distribución Normal multivariada

El vector aleatorio $\mathbf{Y} = (Y_1, \dots, Y_p)'$, tiene una distribución normal multivariada, con vector de medias $\boldsymbol{\mu}$ y matriz de varianzas y covarianza Σ , si su función de densidad está dada por

$$f_{\mathbf{Y}}(\mathbf{y}) = \frac{1}{(\sqrt{2\pi})^p |\boldsymbol{\Sigma}|^{1/2}} e^{-(\mathbf{Y}-\boldsymbol{\mu})' \boldsymbol{\Sigma}^{-1} (\mathbf{Y}-\boldsymbol{\mu})/2}, \quad (2.2)$$

donde p es el número de variables del vector \mathbf{Y} . En este caso se dice que \mathbf{Y} está distribuido como $N_p(\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma})$ y se denota $\mathbf{Y} \sim N_p(\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma})$.

Note que el término $(y - \mu)^2/\sigma^2 = (y - \mu)(\sigma^2)^{-1}(y - \mu)$ en el exponente de la función de densidad normal univariada (2.1) mide el cuadrado de la distancia de y hasta μ en unidades de desviación estándar. De igual manera, el término $(\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})' \boldsymbol{\Sigma}^{-1} (\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})$ en el exponente de la función de densidad normal multivariante (2.2) representa el cuadrado de la distancia generalizada de \mathbf{Y} hasta $\boldsymbol{\mu}$, o la distancia

$$\Delta^2 = (\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu})' \boldsymbol{\Sigma}^{-1} (\mathbf{Y} - \boldsymbol{\mu}) \quad (2.3)$$

El término, $|\boldsymbol{\Sigma}|^{1/2}$ en (2.2) es el análogo de $\sqrt{\sigma^2}$ en (2.1).

A continuación se definen algunas distribuciones derivadas de la distribución normal.

2.1.3. Distribución Chi-cuadrado

Sean Y_1, Y_2, \dots, Y_k , k variables aleatorias normales independientes de media 0 y varianza 1, la variable definida como

$$X = Y_1^2 + Y_2^2 + \dots + Y_k^2 = \sum_{i=1}^k Y_i^2$$

tiene una distribución chi-cuadrado con k grados de libertad, y se denota como $X \sim \chi_{(k)}^2$. Su función de densidad está dada por

$$f_X(x) = \frac{1}{\Gamma(k/2)} \left(\frac{1}{2}\right)^{k/2} x^{k/2-1} e^{-\frac{1}{2}x}, \quad \text{si } x > 0,$$

y $f_X(x) = 0$ si $x \leq 0$. Los *grados de libertad* corresponden al número de variables aleatorias independientes en la suma $X = Y_1^2 + \dots + Y_k^2$. Se puede notar que la función de densidad chi-cuadrado es un caso particular de la función de densidad Gamma dada por

$$f_X(x; r, \lambda) = \frac{\lambda}{\Gamma(r)} (\lambda x)^{r-1} e^{-\lambda x}, \quad x > 0,$$

con parámetros $r = k/2$ y $\lambda = 1/2$.

Si una variable aleatoria X tiene una distribución chi-cuadrado, entonces el valor esperado y la varianza son dadas por

$$E[X] = \frac{k/2}{1/2} = k,$$

$$V[X] = \frac{k/2}{(1/2)^2} = 2k,$$

y su función generadora de momentos está dada por

$$m_X(t) = \left[\frac{\frac{1}{2}}{\frac{1}{2} - t} \right]^{k/2} = \left[\frac{1}{1 - 2t} \right]^{k/2}, \quad t < 1/2.$$

2.1.4. Distribución t de Student

Sea Z una variable aleatoria $N(0, 1)$ y U una variable aleatoria con distribución $\chi_{(k)}^2$, si Z y U son independientes entonces la variable aleatoria

$$T = \frac{Z}{\sqrt{U/k}},$$

tiene una distribución t con k grados de libertad. La notación usada es $T \sim t_{(k)}$ y su función de densidad está dada por

$$f_T(t) = \frac{\Gamma(\frac{k+1}{2})}{\Gamma(k/2)\sqrt{\pi k}(1 + \frac{t^2}{k})^{(k+1)/2}}, \quad -\infty < t < \infty.$$

2.1.5. Distribución F

Si W_1 y W_2 son dos variables aleatorias independientes cada una con distribución chi-cuadrada con m y n grados de libertad, respectivamente, entonces, la variable aleatoria

$$W = \frac{W_1/m}{W_2/n},$$

tiene una función de distribución F de Snedecor con m y n grados de libertad, y se representa como: $W \sim F_{(m,n)}$.

La función de densidad de la variable aleatoria W tiene la siguiente expresión

$$f_W(w) = \frac{\Gamma(\frac{m+n}{2})m^{m/2}n^{n/2}w^{(m-2)/2}(n+mw)^{-(m+n)/2}}{\Gamma(\frac{m}{2})\Gamma(\frac{n}{2})}, \quad w > 0,$$

y $f_W(w) = 0$ si $w \leq 0$. El valor esperado y la varianza de una distribución F están dadas por

$$E(X) = \frac{n}{n-2},$$

$$V(X) = \frac{2n^2(m+n-2)}{m(n-2)^2(n-4)}.$$

■

En adelante, cuando se refiere a una sucesión de variables aleatorias (o de vectores aleatorios) se está refiriendo a la sucesión $\{X_n\}_{n \geq 1}$ de variables aleatorias, todas definidas en un mismo espacio de probabilidad $(\Omega, \mathcal{F}, \mathcal{P})$. Un problema de interés en teoría asintótica es la convergencia en distribución de una sucesión de variables o vectores aleatorios.

2.2. Convergencia en Distribución

Sea $\{X_n\}_{n \geq 1}$ una sucesión de variables aleatorias con funciones de distribución $F_n(x)$ respectivamente, y sea $F_X(x)$ la función de distribución de alguna variable aleatoria conocida. Se dice que la sucesión de variables aleatorias $\{X_n\}_{n \geq 1}$ converge en distribución a X si y sólo si

$$\lim_{n \rightarrow \infty} F_n(x) = F_X(x),$$

en todo x punto de continuidad de $F_X(x)$. La notación simplificada de este límite es $F_n(x) \xrightarrow{d} F(x)$. Por ejemplo, un caso muy usado en la inferencia estadística clásica es que la distribución t de Student con n grados de libertad converge a la normal estandar, esto es, $t_{(n)} \xrightarrow{d} N(0, 1)$.

2.3. Ordenes de magnitud

Otro problema frecuente en el estudio de métodos asintóticos consiste en la comparación de sucesiones de variables aleatorias. La base para el estudio de este problema es comparar el comportamiento de dos sucesiones de números reales $\{a_n\}_{n \geq 1}$ y $\{b_n\}_{n \geq 1}$, cuando n tiende al infinito.

Por ejemplo, sea $a_n = b_n^2$, $n \geq 1$ y suponga que $\{b_n\}_{n \geq 1}$ está limitada para todo n suficientemente grande, o más específicamente, que existe un número real $K > 0$ y un entero positivo $n_0 = n_0(K)$ tal que $|b_n| \leq K$, $\forall n \geq n_0$. El problema es deducir propiedades de la sucesión $\{a_n\}_{n \geq 1}$. En este caso es claro que $|a_n| \leq K^2$, $\forall n \geq n_0$, y consecuentemente, se puede deducir que $\{a_n\}_{n \geq 1}$ también está limitada para todo n suficientemente grande.

2.3.1. Orden de magnitud de sucesiones de números reales

Sean $\{a_n\}_{n \geq 1}$ y $\{b_n\}_{n \geq 1}$ sucesiones de números reales, entonces:

- i) $a_n = O(b_n)$ si existe un número real $K > 0$ y un número entero positivo $n_0 = n_0(K)$ tal que $|a_n/b_n| \leq K, \forall n \geq n_0$;
- ii) $a_n = o(b_n)$ si para todo $\epsilon > 0$ existe un número entero positivo $n_0 = n_0(\epsilon)$ tal que $|a_n/b_n| < \epsilon, \forall n \geq n_0$.

De otra forma, $a_n = O(b_n)$ si $|a_n/b_n|$ es limitado para todo n suficientemente grande y $a_n = o(b_n)$ si $\frac{a_n}{b_n} \rightarrow 0$ cuando $n \rightarrow \infty$.

En particular, $a_n = O(1)$ si $|a_n| \leq K, \forall n$ suficientemente grande y $a_n = o(1)$ si $a_n \rightarrow 0$ cuando $n \rightarrow \infty$.

2.3.2. Orden de magnitud de sucesiones de variables aleatorias

Sea $\{X_n\}_{n \geq 1}$ una sucesión de variables aleatorias y $\{b_n\}_{n \geq 1}$ una sucesión de números reales (o variables aleatorias), entonces:

- i) $X_n = O_p(b_n)$ si para todo número real $\eta > 0$ existe un número real positivo $K = K(\eta)$ y un número entero positivo $n_0 = n_0(\eta)$, tal que

$$P(|X_n/b_n| \geq K) \leq \eta, \quad \forall n \geq n_0,$$

o en forma equivalente

$$P(|X_n/b_n| \leq K) \geq 1 - \eta;$$

- ii) $X_n = o_p(b_n)$ si para todo número real $\epsilon > 0$ y para todo número real $\eta > 0$ existe un número entero positivo $n_0 = n_0(\epsilon, \eta)$, tal que

$$P(|X_n/b_n| \geq \epsilon) < \eta, \quad \forall n \geq n_0.$$

De otra forma, $X_n = O_p(b_n)$ si $\left\{ \frac{X_n}{b_n} \right\}_{n \geq 1}$ es limitada en probabilidad, para todo n suficientemente grande, y $X_n = o_p(b_n)$, si para todo número real $\epsilon > 0$, $P(|X_n/b_n| \geq \epsilon) \rightarrow 0$ cuando $n \rightarrow \infty$.

En particular, $X_n = O_p(1)$, si para todo número real $\eta > 0$ existe un número real $K > 0$ tal que $P(|X_n| \geq K) \leq \eta$, para todo n suficientemente grande, y $X_n = o_p(1)$, si para todo número real $\epsilon > 0$, $P(|X_n| \geq \epsilon) \rightarrow 0$ cuando $n \rightarrow \infty$.

2.4. Análisis de Varianza de un factor

El análisis de varianza de un factor es un procedimiento útil para verificar diferencias estadísticamente significativas entre a grupos de datos. La idea es evaluar si existen diferencias en una variable respuesta real debida a los distintos “ a ” niveles de una variable explicativa o factor, la cual es medida en una escala nominal. Comúnmente se les llama *tratamientos*.

Suponga que se mide una variable respuesta Y frente a “ a ” niveles de una variable explicativa X llamada factor. La variable Y asume valores en una escala real y X es una variable categórica. Para la aplicación de la técnica del Análisis de Varianza de un factor, la información de la muestra puede organizarse como se presenta en la Tabla 2.1.

De otra forma, suponga que se estudia un experimento con a tratamientos, tal que para el i -ésimo tratamiento, se tiene la j -ésima observación, en cuyo caso la variable respuesta toma el valor particular y_{ij} . La asignación de los tratamientos a cada unidad experimental se hace en forma totalmente aleatoria. En la Tabla 2.1 la variable $\bar{y}_{..}$ representa la media total y $\bar{y}_{.i}$ la media del i -ésimo tratamiento, $i = 1, 2, \dots, a$. Note en este caso que por cada

Tabla 2.1: Datos de un diseño balanceado de un factor

		Tratamientos				
		T_1	T_2	T_3	...	T_a
Observaciones		y_{11}	y_{21}	y_{31}	...	y_{a1}
		y_{12}	y_{22}	y_{32}	...	y_{a2}
		\vdots	\vdots	\vdots	\ddots	\vdots
		y_{1n}	y_{2n}	y_{3n}	...	y_{an}
		$y_{1\cdot}$	$y_{2\cdot}$	$y_{3\cdot}$...	$y_{a\cdot}$
		$\bar{y}_{1\cdot}$	$\bar{y}_{2\cdot}$	$\bar{y}_{3\cdot}$...	$\bar{y}_{a\cdot}$

Tabla 2.2: Datos de un diseño desbalanceado de un factor

		Tratamientos				
		T_1	T_2	T_3	...	T_a
Observaciones		y_{11}	y_{21}	y_{31}	...	y_{a1}
		y_{12}	y_{22}	y_{32}	...	y_{a2}
		y_{13}	\vdots	y_{33}	...	\vdots
		\vdots		\vdots		y_{an_a}
			\vdots	y_{3n_3}	\vdots	
		y_{1n_1}				
			y_{2n_2}			

tratamiento se tiene el mismo número de observaciones n , lo que se conoce como un diseño balanceado. Sin embargo, algunos experimentos podrían no tener el mismo número de observaciones dentro de cada tratamiento, como se muestra en la Tabla 2.2. En este caso se dice que el diseño es desbalanceado.

Se supone que cada tratamiento representa una población a partir de la cual se obtiene cada muestra; también que las distribuciones de las poblaciones para cada tratamiento son normales con varianzas iguales, lo que se conoce como el supuesto de homocedasticidad. De acuerdo con lo anterior, las columnas de la Tabla 2.2 representan a muestras aleatorias independientes de tamaños n_i , $i = 1, 2, \dots, a$ de las distribuciones normales independientes $N(\mu_i, \sigma^2)$.

Las variables que intervienen en un *diseño experimental balanceado* de un factor pueden relacionarse a través de un modelo lineal de la forma

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}, \quad (2.4)$$

con $i = 1, 2, \dots, a$ y $j = 1, 2, \dots, n$, donde y_{ij} representa la j -ésima observación del i -ésimo tratamiento, μ es la media sobre todas las a poblaciones, τ_i representa el efecto sobre la variable respuesta debido al i -ésimo tratamiento y ϵ_{ij} es el error experimental para la j -ésima observación bajo el i -ésimo tratamiento. Se supone, como se mencionó antes, que los errores son variables aleatorias independientes, normalmente distribuidos con medias cero y varianzas iguales. En otras palabras, las variables $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ para toda i y j , y son independientes.

Cuando el *diseño es no balanceado*, el modelo ANOVA de un factor tiene la misma expresión

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}, \quad (2.5)$$

con $i = 1, 2, \dots, a$, pero $j = n_1, n_2, \dots, n_a$, y se mantienen los mismos supuestos sobre los errores aleatorios ϵ_{ij} . Bajo estos supuestos tanto en (2.4) como en (2.5) la media de cada y_{ij} es dada por $E(y_{ij}) = \mu + \tau_i = \mu_i$, $i = 1, 2, \dots, a$.

El procedimiento para verificar el efecto de los a diferentes tratamientos sobre la variable Y , se apoya en un sistema de hipótesis donde la hipótesis nula H_0 afirma que no existe diferencia entre las medias de las a poblaciones, mientras que la hipótesis alternativa H_1 dice que por lo menos una de las medias de las poblaciones difiere de las demás. En otros términos, se trata de contrastar el siguiente sistema de hipótesis:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a, \quad (2.6)$$

vs

$$H_1 : \mu_l \neq \mu_k \quad \text{para algún } l \neq k.$$

Si es posible rechazar la hipótesis nula con base en las a muestras independientes, entonces se afirma que las medias de las a poblaciones no son todas iguales entre sí, o que el efecto de los tratamientos sobre la variable respuesta es estadísticamente distinta. Si no puede rechazarse la hipótesis nula, cualquier desviación observada en la variable respuesta se puede atribuir al error aleatorio y no a causa del cambio en los tratamientos.

Lo que sigue es la construcción del Estadístico de Prueba, que es una función de las a muestras, y por lo tanto una variable aleatoria, a través de la cual se contrastan las hipótesis anteriores. Una estrategia consiste en descomponer la variación total de los datos con respecto a la media global en dos componentes: la variación entre las medias de los a tratamientos respecto a la media global más la variación de los datos dentro de cada tratamiento respecto a sus propias medias. En resumen, si el diseño es balanceado se trata de la siguiente descomposición de la variación total

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2 &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i.} + \bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..})^2 \\ &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n ((y_{ij} - \bar{y}_{i.}) + (\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..}))^2 \\ &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..})^2, \end{aligned}$$

dado que $2 \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i.})(\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..}) = 0$. Ahora, dividiendo entre los correspondientes grados de libertad, se tiene la igualdad

$$\begin{aligned} \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2}{an - 1} &= \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2}{a(n - 1)} + \frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..})^2}{a - 1} \\ \frac{SCT}{an - 1} &= \frac{SCD}{a(n - 1)} + \frac{SCE}{a - 1}, \end{aligned}$$

donde SCT se denomina la suma de los cuadrados totales, SCD es la suma de los cuadra-

dos dentro de los tratamientos y SCE es la suma de los cuadrados entre los tratamientos. Si el diseño es desbalanceado la n de las sumatorias se cambia por n_i y los an de los denominadores se cambia por $N = n_1 + \dots + n_a$.

Intuitivamente, para afirmar que existen diferencias en los valores de la variable respuesta según los niveles del factor, tendría que ocurrir simultáneamente que el comportamiento de la variable sea lo más distinto posible para los distintos niveles del factor, y a su vez, que dentro de cada tratamiento los valores sean lo más homogéneos posibles. En otras palabras, se tiene que dar que la variación dentro de los tratamientos sea mínima, y que la variación entre los tratamientos sea máxima. Por lo tanto, el *análisis de la varianza* se basa no sólo en la descomposición de la variación total, sino también en la comparación de la variación ENTRE tratamientos y la variación DENTRO de los tratamientos, teniendo en cuenta sus correspondientes grados de libertad.

Cuando se divide cada uno de los términos de la expresión anterior entre sus grados de libertad y después de una sencilla operación algebraica, se obtiene el estadístico^a

$$\mathcal{F} = \frac{SCE/(a-1)}{SCD/a(n-1)} = \frac{\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}_{\cdot\cdot})^2}{a-1}}{\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i\cdot})^2}{a(n-1)}}$$

La \mathcal{F} así construida es una función de la muestra y por lo tanto es una variable aleatoria. En el caso de que la hipótesis nula sea cierta, tiene una distribución F de Snedecor con $a - 1$ y $a(n - 1)$ grados de libertad en el numerador y en el denominador respectivamente, y se puede utilizar para probar el sistema de hipótesis propuesto. Valores grandes de F permiten rechazar la hipótesis nula con una pequeña probabilidad de error.

Cuando se tienen solamente $a = 2$ tratamientos, y se quiere comprobar si proceden de la misma población, con una única media, se podría construir un estadístico de prueba que tiene distribución t de Student, pero el razonamiento no se puede extender al caso en que se tienen más de dos grupos, lo que si puede hacerse con el Análisis de Varianza, a

^aLas tablas de la distribución F son de Snedecor quien se basó en un trabajo previo de Sir Ronald Aymer Fisher (1890-1962), y en su honor se denominó F . El ANOVA se debe fundamentalmente a Fisher. George Waddle Snedecor (1881-1974) fue el primero en fundar en USA un departamento de Estadística en Iowa State University.

menos de que se hagan $a(a - 1)/2$ comparaciones por pares lo cual afecta sensiblemente el nivel de significancia α de la prueba global.

Otras razones para utilizar el análisis de varianza en vez de la t de Student se enuncian a continuación:

- i) La razón más importante (y suficiente) para no utilizar la t de Student con más de dos grupos es que, al hacer muchas comparaciones de dos en dos, aumenta la probabilidad de que algunas diferencias resulten significativas debidas al azar y entonces cabe la posibilidad de afirmar que hay una diferencia (de no aceptar la hipótesis nula) cuando realmente no la hay.
- ii) Una prueba estadística basada en todos los datos utilizados simultáneamente, es más estable que la prueba o análisis que parcializa los datos y no los examina todos juntos. El error típico (que expresa la variación en las medias que podemos encontrar en diversas muestras) es menor cuando el número de sujetos es mayor, como sucede cuando se analizan todos los datos de todos los grupos simultáneamente. En principio es preferible utilizar un método de análisis global que abarque todos los datos que se quieren examinar.
- iii) El ahorro de tiempo es otra razón que a veces se aduce, aunque en si misma no es una razón válida. El número de comparaciones de dos en dos de a elementos es igual a $a(a - 1)/2$; con seis grupos habría que hacer 15 comparaciones y con 10 grupos subirían a 45. El análisis de varianza verifica *de entrada* si existe o no diferencias significativas entre pares de medias, y si no existe es necesario hacer más análisis. En cualquier caso no sería legítimo comparar todas las medias de dos en dos, en un mismo planteamiento.

Como ya se mencionó, el Análisis de Varianza tiene como uno de sus supuestos la homocedasticidad, esto es, que los grupos o muestras provienen de poblaciones con igual varianza. El no cumplimiento de este supuesto genera el problema de heterocedasticidad y es precisamente el problema que aborda el trabajo de Behrens-Fisher.

Capítulo 3

El problema de BF en el ANOVA de un factor

En este capítulo se mostrará inicialmente una breve revisión del problema de Behrens-Fisher (BF) en su componente histórico y analítico, mostrando algunas aproximaciones que se han desarrollado para su solución. Luego, se describen cuatro estadísticos de prueba para probar la hipótesis (2.6) para el caso del ANOVA de un factor con a tratamientos.

3.1. Una breve revisión al problema BF

Antes de presentar el problema de BF en el contexto del ANOVA de un factor se introduce el caso general para el caso univariado y multivariado.

3.1.1. Caso univariado

Sean X_1, X_2 dos variables aleatorias normales independientes con sus respectivas medias $\mu_i, i = 1, 2$, y con varianzas desconocidas y arbitrarias $\sigma_i^2 > 0$. Bajo estas condiciones se desea contrastar las hipótesis

$$\begin{aligned} H_0 &: \mu_1 = \mu_2 \\ \text{vs} \quad H_1 &: \mu_1 \neq \mu_2. \end{aligned}$$

El contraste de hipótesis está basado en una muestra de $n_1 + n_2$ valores

$$x = \{x_{11}, \dots, x_{1n_1}; x_{21}, \dots, x_{2n_2}\},$$

donde cada submuestra viene de 2 poblaciones independientes e idénticamente distribuidas de X_i , para $i = 1, 2$.

La diferencia con respecto al conocido test t de Student para la comparación de las medias de dos poblaciones normales con varianzas desconocidas pero iguales consiste en no hacer ninguna suposición respecto de las varianzas. Esto es, la diferencia fundamental está en que para aplicar el test t de Student se necesita homocedasticidad mientras que en el problema de Behrens-Fisher trata el caso heterocedástico. La aparición de heterocedasticidad en los modelos estadísticos suele complicar la inferencia estadística entrando en un campo donde aparecen las soluciones aproximadas dadas por métodos numéricos.

La solución más temprana a este problema fue propuesta por Behrens en 1929 y luego replanteada por Fisher en 1935. Behrens y Fisher propusieron encontrar la distribución de probabilidad del estadístico

$$\tau = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2}} \quad (3.1)$$

donde, para cada submuestra $(x_{i1}, \dots, x_{in_i}), i = 1, 2; \bar{x}_1, \bar{x}_2$, representan las medias mues-

trales y s_1^2 , s_2^2 corresponden a las varianzas muestrales con denominador n_i . El problema es que el estadístico τ no necesariamente se distribuye según el modelo de probabilidad t de Student con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad. Luego su esfuerzo se centró en conocer la forma aproximada de la distribución muestral de τ . Fisher encontró una distribución basada en una diferencia ponderada de dos distribuciones t separadas. Demostró que el estadístico de prueba

$$d = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2) - (\mu_1 - \mu_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}},$$

podría expresarse como

$$d = t_1 \text{sen} R + t_2 \text{cos} R$$

donde t_1 y t_2 son variables aleatorias independientes con distribuciones t , con n_1 y n_2 grados de libertad respectivamente y $R = (s_1/s_2)(n_2/n_1)^{1/2}$. Sukhatme (1938) construyó una tabla para calcular algunos percentiles de la distribución de Behrens-Fisher que permitía resolver el problema para algunos contenidos probabilísticos dados. Sin embargo, actualmente gracias al avance computacional se puede resolver fácilmente el problema sin necesidad de recurrir a ninguna tabla.

Welch (1938) propuso una aproximación alternativa. En esta aproximación τ se concibe como una variable aleatoria distribuida según la t de Student, pero con un número desconocido de grados de libertad. Para determinar los grados de libertad (gl) que corresponden a la distribución de τ se parte de la expresión

$$gl = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)}{\frac{(s_1^2/n_1)^2}{n_1-1} + \frac{(s_2^2/n_2)^2}{n_2-1}},$$

y el valor de gl se aproxima al entero más cercano. Se obtienen así unos grados de libertad comprendidos entre un mínimo y un máximo conocidos, el mínimo es el valor más pequeño de $n_1 - 1$ y $n_2 - 1$; y el máximo es $n_1 + n_2 - 2$. El criterio de decisión es rechazar H_0 si $|\tau| \geq t_{(\alpha/2, gl)}$ donde $t_{(\alpha/2, gl)}$ es el $(\alpha/2)$ -percentil superior de una distribución t de Student con gl grados de libertad.

Para el problema de BF de dos muestras en 1947, Welch aproxima la distribución de

d por una distribución t cuyos grados de libertad dependen de n_1, n_2, s_1^2 y s_2^2 . Cuando las dos muestras tienen la misma varianza, la clásica prueba t puede ser utilizada para comparar las dos medias normales, pero para el problema de BF de dos muestras esta prueba ya no es aplicable. Sin embargo, Welch (1947) encontró que cuando los grados de libertad son correctamente ajustados, la clásica prueba t puede ser utilizada resultando la llamada prueba ADF (*Adjusted Degree Freedom*), la cual funciona razonablemente bien en términos de control del tamaño y potencia. La aproximación de los grados de libertad de Welch (prueba ADF) son obtenidos de la ecuación $s_1^2/n_1 + s_2^2/n_2$ con los momentos de una variable chi-cuadrada (Wang, 1971). El estimador de f es

$$\hat{f} = \frac{(f_1)(f_2)}{f_2\hat{C}^2 + f_1(1 - \hat{C})^2},$$

donde $f_i = n_i - 1$ y

$$\hat{C} = \frac{s_1^2/n_1}{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}.$$

Más tarde, Welch (1951) extendió su prueba ADF al problema del ANOVA heteroscedástico de un factor, ajustando correctamente los grados de libertad de la clásica prueba F .

Varios estadísticos han desarrollado distintas soluciones para el problema de Behrens-Fisher, pero la mayoría de estas soluciones eran aproximaciones de cualquiera de las soluciones de Fisher o de Welch. Cochran y Cox (1950), Banerjee (1961) y Patil (1965) idearon aproximaciones a la solución de Fisher. Las pruebas de Banerjee y de Cochran y Cox eran fáciles de utilizar, sin embargo el tamaño de la prueba se desvía en una magnitud similar a la prueba de Fisher. Wald (1955), Pagurova (1968) y Lee y Gurland (1975) desarrollaron aproximaciones a la solución de Welch.

Más recientemente, para el ANOVA heteroscedástico de un factor, Krishnamoorthy, Lu y Mathew (2007) proponen la prueba llamada Bootstrap Paramétrico (BP). Esta prueba BP es extendida para el MANOVA de un factor por Krishnamoorthy y Lu (2009). Como aparece en la literatura, las pruebas basadas en estudios de simulación generalmente tienen un buen desarrollo en términos de control del tamaño y la potencia. Por

ejemplo, Krishnamoorthy, Lu y Mathew (2007) y Krishnamoorthy y Lu (2009) desarrollaron estudios de simulación, donde su prueba del Bootstrap Paramétrico (BP) tenía buen desempeño bajo varias configuraciones de parámetros.

3.1.2. Caso multivariado

En el caso multivariado en el cual p variables son medidas sobre cada unidad de observación, sea \mathbf{y}_{ij} , $i = 1, \dots, n_j$, una muestra aleatoria con distribución $N_p(\boldsymbol{\mu}_j, \boldsymbol{\Sigma}_j)$, $j = 1, 2$, y considerando la hipótesis nula

$$H_0 : \boldsymbol{\mu}_1 = \boldsymbol{\mu}_2, \quad (3.2)$$

el problema de Behrens-Fisher se presenta al comparar las medias o vectores medios de las poblaciones normales sin asumir la igualdad de las matrices de varianzas y covarianzas de dichas poblaciones, es decir cuando $\boldsymbol{\Sigma}_1 \neq \boldsymbol{\Sigma}_2$. Un estadístico natural para probar (3.2) es

$$T = (\bar{\mathbf{y}}_1 - \bar{\mathbf{y}}_2)' \left(\frac{\mathbf{S}_1}{n_1} + \frac{\mathbf{S}_2}{n_2} \right)^{-1} (\bar{\mathbf{y}}_1 - \bar{\mathbf{y}}_2), \quad (3.3)$$

donde

$$\bar{\mathbf{y}}_1 = \frac{1}{n_j} \sum_{i=1}^{n_j} \mathbf{y}_{ij}, \quad \mathbf{S}_j = \frac{1}{n_j - 1} \sum_{i=1}^{n_j} (\mathbf{y}_{ij} - \mathbf{y}_j)(\mathbf{y}_{ij} - \mathbf{y}_j)'$$

Se puede observar que (3.3) es la versión multivariada del estadístico considerado por Welch (1938). También se observa que cuando n_1 y n_2 tienden al infinito, T converge a una distribución chi-cuadrado con p grados de libertad. La aproximación chi-cuadrado es muy sencilla, pero cuando los tamaños de las muestras n_1 o n_2 son pequeños, la convergencia de T a la $\chi_{(p)}^2$ no es buena.

Cuando $n_1 = n_2$ y $\boldsymbol{\Sigma}_1 = \boldsymbol{\Sigma}_2$, (3.3) es equivalente al estadístico T^2 de Hotelling. Por lo tanto, bajo la hipótesis nula en (3.2), $(n - p - 1)T/p(n - 2)$ sigue una distribución F con p y $n - p - 1$ grados de libertad, donde $n = n_1 + n_2$.

Para el caso cuando $\boldsymbol{\Sigma}_1 \neq \boldsymbol{\Sigma}_2$ o $n_1 \neq n_2$, varios autores obtuvieron soluciones aproximadas. Bennett (1951) dio una solución al problema de Behrens-Fisher extendiendo los

resultados de Scheffé (1943) para el caso multivariado. Sin embargo, el estadístico de Bennett depende del orden de las observaciones dentro de la muestra de mayor tamaño y por lo tanto no es recomendable. Yao (1965), obtuvo una solución aproximada al problema multivariado de Behrens-Fisher, mediante la modificación del estadístico T para seguir aproximadamente una distribución F .

3.1.3. Estadístico T^2 de Hotelling

Sea y_1, y_2, \dots, y_n , una muestra aleatoria de la distribución $N(\mu, \sigma^2)$, μ es estimada por \bar{y} y σ^2 por s^2 . Para contrastar las hipótesis

$$\begin{aligned} H_0 &: \mu = \mu_0 \\ \text{vs} \quad H_1 &: \mu \neq \mu_0, \end{aligned}$$

cuando σ es desconocida, se utiliza el estadístico

$$t = \frac{\bar{y} - \mu_0}{s/\sqrt{n}} = \frac{\sqrt{n}(\bar{y} - \mu_0)}{s}. \quad (3.4)$$

Si H_0 es verdadera, t se distribuye como $t_{(n-1)}$, donde $n - 1$ son los grados de libertad, y se rechaza H_0 si $|\sqrt{n}(\bar{y} - \mu_0)/s| \geq t_{\alpha/2, n-1}$, donde $t_{\alpha/2, n-1}$ es el percentil $1 - \alpha/2$ de la distribución $t_{(n-1)}$.

Ahora, para el caso en el cual p variables son medidas sobre cada muestra, sea \mathbf{y}_{ij} , $i = 1, \dots, n_j$, una muestra aleatoria con distribución $N_p(\boldsymbol{\mu}_j, \boldsymbol{\Sigma}_j)$, $j = 1, 2$. $\boldsymbol{\mu}$ es estimada por $\bar{\mathbf{y}}$ y $\boldsymbol{\Sigma}$ por \mathbf{S} . Para contrastar las hipótesis

$$\begin{aligned} H_0 &: \boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\mu}_0 \\ \text{vs} \quad H_1 &: \boldsymbol{\mu} \neq \boldsymbol{\mu}_0, \end{aligned}$$

cuando Σ es desconocida, se utiliza la extensión del estadístico t en (3.5), el cual se puede re-escribir como

$$t^2 = \frac{n(\bar{y} - \mu_0)^2}{s^2} = n(\bar{y} - \mu_0)(s^2)^{-1}(\bar{y} - \mu_0),$$

en cuyo caso $\bar{y} - \mu_0$ y s^2 son reemplazados por $\bar{\mathbf{y}} - \boldsymbol{\mu}_0$ y \mathbf{S} respectivamente, obteniéndose el estadístico

$$T^2 = n(\bar{\mathbf{y}} - \boldsymbol{\mu}_0)' \mathbf{S}^{-1}(\bar{\mathbf{y}} - \boldsymbol{\mu}_0). \quad (3.5)$$

La distribución de T^2 fue desarrollada por Hotelling (1931). Cuando $H_0 : \boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\mu}_0$ es verdadera y tomando muestras de la $N_p(\boldsymbol{\mu}, \Sigma)$, $T^2 \xrightarrow{d} \chi_{(p)}^2$.

3.2. El problema de Behrens-Fisher (BF) para a tratamientos

Considere a muestras como en la Tabla 2.2, donde las muestras y_{ij} , $j = 1, 2, \dots, n_i$ para $i = 1, 2, \dots, a$ provienen de a poblaciones normales $N(\mu_i, \sigma_i^2)$ independientes. El problema BF se presenta al contrastar las hipótesis

$$\begin{aligned} H_0 & : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a, \\ \text{vs} \quad H_1 & : \text{algún par es diferente,} \end{aligned} \quad (3.6)$$

sin asumir la igualdad de varianzas $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \dots = \sigma_a^2$. A continuación se describen 4 estadísticos de prueba denominados *el estadístico de Welch*, *el estadístico del Bootstrap Paramétrico*, *el estadístico de Wald* y *el estadístico Modificado de Bartlett*, que dan solución a dicho problema.

3.2.1. Estadístico de Welch

Para el problema de Behrens-Fisher de a tratamientos, Welch (1951) propuso el estadístico

$$T = \frac{T_N(\bar{X}_1, \dots, \bar{X}_a; S_1^2, \dots, S_a^2)/(a-1)}{1 + (2(a-2)/(a^2-1)) \sum_{i=1}^a (1/(n_i-1))(1-w_i/w)^2}, \quad (3.7)$$

donde $T \sim F_{a-1, f}$ aproximadamente; $\hat{\sigma}_i^2 = S_i^2$, $\hat{\mu}_i = \bar{X}_i$ y

$$T_N(\bar{X}_1, \dots, \bar{X}_a; S_1^2, \dots, S_a^2) = \sum_{i=1}^a \frac{n_i}{S_i^2} \bar{X}_i^2 - \frac{[\sum_{i=1}^a n_i \bar{X}_i / S_i^2]^2}{\sum_{i=1}^a n_i / S_i^2}, \quad (3.8)$$

$w_i = n_i/S_i^2$, n_i son las observaciones de las a poblaciones normales con $w = \sum_{i=1}^a w_i$. $F_{r,s}$ es una variable aleatoria que tiene una distribución F con (r, s) grados de libertad, y

$$f = \left[\frac{3}{a^2-1} \sum_{i=1}^a \frac{1}{n_i-1} \left(1 - \frac{w_i}{w}\right)^2 \right]^{-1}.$$

Para un nivel de significancia α dado, y un valor observado T_{obs} de T , el estadístico de Welch rechaza H_0 en (3.6) si $P(F_{a-1, f} > T_{obs}) < \alpha$.

3.2.2. Estadístico Paramétrico tipo Bootstrap

Para mejorar el ajuste del estadístico de Welch a su distribución asintótica, Krishnamoorthy, Lu y Mathew(2007) proponen un remuestreo paramétrico tipo bootstrap y construyen el estadístico T_{NB} dado en (3.10). El procedimiento de ajuste se describe a continuación.

Partiendo del hecho que las distribuciones muestrales para la media \bar{X} y la varianza S^2 de una muestra aleatoria de tamaño n de la distribución $N(\mu, \sigma^2)$, son $\bar{X} \sim N(0, \sigma^2/n)$ y $S^2 \sim \sigma^2 \chi_{n-1}^2/(n-1)$, se puede asumir que la media y la varianza de cada submuestra bootstrap, \bar{X}_{B_i} y $S_{B_i}^2$, tienen distribución

$$\bar{X}_{B_i} \sim N(0, S_i^2/n_i) \quad \text{y} \quad S_{B_i}^2 \sim S_i^2 \chi_{n_i-1}^2/(n_i-1),$$

$i = 1, \dots, a$, respectivamente. Entonces, considerando m submuestras bootstrap B_1, B_2, \dots, B_m , para cada submuestra la variable pivote análoga a (3.8) toma la forma

$$\sum_{i=1}^a \frac{n_i}{S_{B_i}^2} \bar{X}_{B_i}^2 - \frac{[\sum_{i=1}^a n_i \bar{X}_{B_i} / S_{B_i}^2]^2}{\sum_{i=1}^a n_i / S_{B_i}^2}. \quad (3.9)$$

Es decir, si \bar{X}_{B_i} se distribuye como una $Z_i \sim N(0, \frac{S_i^2}{n_i})$ y $S_{B_i}^2$ como una $\frac{S_i^2 \chi_{n_i-1}^2}{n_i-1}$, se puede verificar fácilmente que la variable pivote BP en (3.9) se distribuye según la variable

$$T_{NB}(Z_i, \chi_{n_i-1}^2; S_i^2) = \sum_{i=1}^a \frac{Z_i^2(n_i-1)}{\chi_{n_i-1}^2} - \frac{[\sum_{i=1}^a (\sqrt{n_i} Z_i (n_i-1) / (S_i \chi_{n_i-1}^2))]^2}{\sum_{i=1}^a (n_i(n_i-1) / (S_i^2 \chi_{n_i-1}^2))}. \quad (3.10)$$

Luego, para un vector observado (S_1^2, \dots, S_a^2) y un nivel de significancia α dados, el estadístico T_{NB} rechaza H_0 en (3.6) si

$$P(T_{NB}(Z_i, \chi_{n_i-1}^2; s_i^2) > T_{N_{obs}}) < \alpha, \quad (3.11)$$

donde $T_{N_{obs}}$ es el valor observado (no remuestreado) de T_N .

Ya que la probabilidad anterior no depende de parámetros desconocidos ella puede ser estimada usando simulación Monte Carlo. El algoritmo de simulación que estima el p -valor para la prueba se describe a continuación:

Para valores (n_1, \dots, n_a) , $(\bar{X}_1, \dots, \bar{X}_a)$, (S_1^2, \dots, S_a^2) , obtenidos de las observaciones de los tratamientos;

Paso 1. Calcular T_N de (3.8) el cual corresponde al $T_{N_{obs}}$ de (3.11).

Paso 2. Para cada $j = 1, \dots, m$,

- (i) generar valores $Z_i \sim N(0, 1)$ y $\chi_{n_i-1}^2$ para $i = 1, \dots, a$;
- (ii) calcular el estadístico $T_{NB} = T_{NB}(Z_i, \chi_{n_i-1}^2, s_i^2)$ de (3.10);
- (iii) si $T_{NB} > T_{N_{obs}}$ entonces defina la variable $Q_j = 1$,

Paso 3. Estime el p -valor como $p\text{-valor} = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m Q_j$.

Se rechaza la hipótesis H_0 en (3.6) a un nivel de significancia α si $p\text{-valor} < \alpha$.

Cabe aclarar que las m submuestras bootstrap corresponden a las muestras obtenidas en el ítem (i) del Paso 2.

3.2.3. Estadístico de Wald

El problema de Behrens-Fisher para a -muestras se puede replantear desde la perspectiva de la prueba de hipótesis lineal general

$$H_0 : \mathbf{C}\boldsymbol{\mu} = \mathbf{c} \quad \text{vs} \quad H_1 : \mathbf{C}\boldsymbol{\mu} \neq \mathbf{c}, \quad (3.12)$$

donde $\boldsymbol{\mu} = (\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_a)'$, $\mathbf{C} : q \times a$ es una matriz de coeficientes conocidos con rango $(\mathbf{C}) = q$, y $\mathbf{c} : q \times 1$ es un vector constante conocido, que puede ser el vector nulo. De hecho, la hipótesis (3.6) es equivalente a la hipótesis (3.12) para el ANOVA de un factor si $\mathbf{c} = \mathbf{0}$ y $\mathbf{C} = [\mathbf{I}_{a-1}, -\mathbf{1}_{a-1}]$ donde \mathbf{I}_r y $\mathbf{1}_r$ son la matriz identidad de tamaño r y el vector columna de unos r -dimensional, respectivamente. En este contexto, generalmente \mathbf{C} se denomina una matriz de contrastes y su elección no es única para (3.6). Dos ejemplos particulares se ilustran a continuación.

(i) **Ejemplo 1:**

Si $H_0 : C\mu = 0$, donde

$$H_0 : \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & -1 \\ 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & -1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \\ \vdots \\ \mu_a \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{bmatrix},$$

entonces H_0 implica las siguientes igualdades

$$\begin{aligned} \mu_1 - \mu_a &= 0 \\ \mu_2 - \mu_a &= 0 \\ &\vdots \\ \mu_{a-1} - \mu_a &= 0, \end{aligned}$$

las cuales a la vez implican la igualdad (3.6).

(ii) **Ejemplo 2:**

Si $H_0 : C\mu = 0$, donde

$$H_0 : \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & \dots & 0 & 0 \\ & & & \vdots & & & \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \mu_3 \\ \mu_4 \\ \vdots \\ \mu_{a-1} \\ \mu_a \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix},$$

entonces H_0 implica las igualdades

$$\begin{aligned}\mu_1 - \mu_2 = 0 &\Leftrightarrow \mu_1 = \mu_2 \\ \mu_2 - \mu_3 = 0 &\Leftrightarrow \mu_2 = \mu_3 \\ \mu_3 - \mu_4 = 0 &\Leftrightarrow \mu_3 = \mu_4 \\ &\vdots \\ \mu_{a-1} - \mu_a = 0 &\Leftrightarrow \mu_{a-1} = \mu_a,\end{aligned}$$

las cuales implican a la vez la hipótesis (3.6). Note que $r = a - 1$ y $q = a - 1$.

Construcción del estadístico

En este orden de ideas, para solucionar el problema BF utilizando la prueba MB, donde $i = 1, 2, \dots, a$, sean

$$\hat{\mu}_i = \bar{x}_i = n_i^{-1} \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}, \quad \hat{\sigma}_i^2 = (n_i - 1)^{-1} \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2, \quad (3.13)$$

la media y la varianza muestral para cada tratamiento, respectivamente.

Sea también $\hat{\boldsymbol{\mu}} = (\hat{\mu}_1, \hat{\mu}_2, \dots, \hat{\mu}_a)'$, un estimador insesgado de $\boldsymbol{\mu}$. Es sabido que $\hat{\mu}_i \sim N(\mu_i, \frac{\sigma_i^2}{n_i})$, $i = 1, 2, \dots, a$. Entonces, se tiene que el vector $\hat{\boldsymbol{\mu}} \sim N_a(\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\Sigma})$ donde

$$\boldsymbol{\Sigma} = \text{diag} \left(\frac{\sigma_1^2}{n_1}, \frac{\sigma_2^2}{n_2}, \dots, \frac{\sigma_a^2}{n_a} \right) = \begin{bmatrix} \frac{\sigma_1^2}{n_1} & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \frac{\sigma_2^2}{n_2} & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\sigma_3^2}{n_3} & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & \frac{\sigma_a^2}{n_a} \end{bmatrix}.$$

Partiendo del hecho que $\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c} \sim N_q(\mathbf{C}\boldsymbol{\mu} - \mathbf{c}, \mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}')$, se puede construir un estadístico tipo Wald que en adelante se denominará W .

Sea entonces el estadístico V definido como

$$\begin{aligned} V &= [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c} - \mathbf{C}\boldsymbol{\mu} + \mathbf{c}]' [\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}']^{-1/2} \\ &= [\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}']^{-1/2} [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{C}\boldsymbol{\mu}]', \end{aligned}$$

el estadístico W corresponde a

$$W = V'V = [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{C}\boldsymbol{\mu}]' [\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}']^{-1} [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{C}\boldsymbol{\mu}].$$

Bajo H_0 , $\mathbf{C}\boldsymbol{\mu} = \mathbf{c}$ y la distribución exacta de W es dada por

$$W = [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}]' [\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}']^{-1} [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}] \sim \chi_{(a-1)}^2, \quad (3.14)$$

cuando $\boldsymbol{\Sigma}$ es conocida, o sea cuando $\sigma_i^2, i = 1, \dots, a$ son conocidas. Cuando $\boldsymbol{\Sigma}$ es desconocida, reemplazando $\boldsymbol{\Sigma}$ por $\hat{\boldsymbol{\Sigma}}$ en (3.14) se tiene

$$W = [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}]' [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\Sigma}}\mathbf{C}']^{-1} [\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}], \quad (3.15)$$

donde $\hat{\boldsymbol{\Sigma}} = \text{diag} \left(\frac{\hat{\sigma}_1^2}{n_1}, \frac{\hat{\sigma}_2^2}{n_2}, \dots, \frac{\hat{\sigma}_a^2}{n_a} \right)$, es un estimador insesgado de $\boldsymbol{\Sigma}$. Bajo H_0 en (3.6) $W \xrightarrow{d} \chi_{(a-1)}^2$.

Para el caso de $a = 2$ tratamientos, el estadístico de prueba W se calcula como sigue:

$$H_0 = \mathbf{C}\boldsymbol{\mu} = \mathbf{0} \Leftrightarrow \begin{bmatrix} 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \end{bmatrix} \Leftrightarrow H_0 : \mu_1 - \mu_2 = 0 \Leftrightarrow H_0 : \mu_1 = \mu_2.$$

La matriz $\boldsymbol{\Sigma} = \begin{bmatrix} \frac{\sigma_1^2}{n_1} & 0 \\ 0 & \frac{\sigma_2^2}{n_2} \end{bmatrix}$,

$$W = (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}})' (\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1} (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}}),$$

$$\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} = \begin{bmatrix} 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mu}_1 \\ \hat{\mu}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \hat{\mu}_1 - \hat{\mu}_2 \end{bmatrix},$$

y

$$\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}' = \begin{bmatrix} 1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{\sigma_1^2}{n_1} & 0 \\ 0 & \frac{\sigma_2^2}{n_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\sigma_1^2}{n_1} & -\frac{\sigma_2^2}{n_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2} \end{bmatrix}.$$

Así,

$$\begin{aligned} W &= (\hat{\mu}_1 - \hat{\mu}_2) \frac{1}{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}} (\hat{\mu}_1 - \hat{\mu}_2) \\ &= \frac{(\hat{\mu}_1 - \hat{\mu}_2)^2}{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}} \\ &= \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}} \sim \chi_{(1)}^2 \quad \text{bajo } H_0. \end{aligned}$$

Algunas propiedades asintóticas de W

Para desarrollar algunas propiedades asintóticas del estadístico W , note que

$$W = (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c})' (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\Sigma}}\mathbf{C}')^{-1} (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}),$$

puede expresarse convenientemente en la forma

$$W = \mathbf{z}' \mathbf{V}^{-1} \mathbf{z}, \tag{3.16}$$

con

$$\mathbf{z} = (\mathbf{C}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1/2} (\mathbf{C}\hat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}),$$

$$\mathbf{V} = \mathbf{H}\hat{\boldsymbol{\Sigma}}\mathbf{H}',$$

y

$$\mathbf{H} = (\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1/2}\mathbf{C},$$

pues

$$\begin{aligned} W &= \mathbf{z}'\mathbf{V}^{-1}\mathbf{z} \\ &= (\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c})'(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{H}\widehat{\Sigma}\mathbf{H}')^{-1}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}) \\ &= (\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c})'(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2} \left[(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}'(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2} \right]^{-1} (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}) \\ &= (\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c})'(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{1/2}(\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{1/2}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}) \\ &= (\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c})'(\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1}(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}). \end{aligned}$$

En este caso $\mathbf{z} = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}) \sim N_q(\boldsymbol{\mu}_z, \mathbf{I}_q)$, con

$$E(\mathbf{z}) = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}E(\mathbf{C}\widehat{\boldsymbol{\mu}} - \mathbf{c}) = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\boldsymbol{\mu} - \mathbf{c}) = \boldsymbol{\mu}_z,$$

y

$$V(\mathbf{z}) = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2} = \mathbf{I}_q.$$

Ahora, sea $n_{min} = \min_{i=1}^a n_i$ y $n_{max} = \max_{i=1}^a n_i$, el menor y el mayor tamaño muestral, entre todos los tratamientos y asumiendo además que

$$\frac{n_i}{n_{min}} \rightarrow r_i < \infty, i = 1, 2, \dots, k, \quad \text{cuando } n_{min} \rightarrow \infty, \quad (3.17)$$

para lo cual se requiere que n_1, n_2, \dots, n_a proporcionalmente tiendan al infinito, con el fin de prevenir el caso que n_{min} sea demasiado pequeño comparado con los otros tamaños de muestras, se puede garantizar que $n_{min}(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')$ converja a una matriz no singular cuando $n_{min} \rightarrow \infty$, de donde se puede deducir que $(\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1} = O(n_{min})$ y $\mathbf{H} = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}\mathbf{C} = O(n_{min}^{1/2})$. Fujikoshi (2000) probó los siguientes teoremas.

Teorema 1. *Bajo la hipótesis nula en (3.12) y bajo las condiciones anteriores, cuando $n_{min} \rightarrow \infty$, el estadístico W converge a una distribución χ_q^2 . (Ver demostración en el Apéndice 1).*

La razón de convergencia de W es de orden $n_{min}^{-1/2}$. Esto indica que la distribución de W bajo H_0 , se aproxima lentamente a una distribución χ_q^2 . En otras palabras, la distribución χ_q^2 , puede no ser una muy buena aproximación a la distribución de W cuando n_{min} es pequeño. Para mejorar la razón de convergencia de W , se aplica la corrección de Bartlett (Fujikoshi, 2000), lo que se denomina en la literatura como el Test Modificado de Bartlett (Test MB).

Sea $\mathbf{h}_l = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}\mathbf{c}_l$, $l = 1, 2, \dots, a$, donde $\mathbf{c}_1, \dots, \mathbf{c}_a$ son las a columnas de \mathbf{C} . La corrección modificada de Bartlett, se basa en el siguiente teorema.

Teorema 2. *Bajo H_0 en (3.12) y bajo las mismas condiciones del Teorema 1, cuando $n_{min} \rightarrow \infty$,*

$$E(W) = q \left(1 + \frac{\alpha_1}{n_{min}} \right) + O(n_{min}^{-2}) \quad (3.18)$$

$$E(W^2) = q(q+2) \left(1 + \frac{\alpha_2}{n_{min}} \right) + O(n_{min}^{-2}),$$

donde $\alpha_1 = \frac{2n_{min}}{q}\Delta$, $\alpha_2 = \frac{(14+4q)n_{min}}{q(q+2)}\Delta$, y $\Delta = \sum_{i=1}^a [\frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i] / (n_i - 1)$. Adicionalmente,

$$\frac{q^2}{(n_{max} - 1)k} \leq \Delta \leq \frac{q}{n_{min} - 1}. \quad (3.19)$$

El Teorema 2 implica que $E(W) = q + O(n_{min}^{-1})$ y $E(W^2) = q(q+2) + O(n_{min}^{-1})$.

3.2.4. Estadístico Modificado de Bartlett (MB)

Ya que la corrección modificada de Bartlett dada por Fujikoshi(2000) busca el mejoramiento de la convergencia de W a su distribución a un orden superior, para obtener el orden n_{min}^{-2} se propone la transformación logarítmica

$$T_{MB} = (n_{min}\beta_1 + \beta_2) \log \left(1 + \frac{W}{n_{min}\beta_1} \right),$$

donde $\beta_1 = \frac{2}{\alpha_2 - 2\alpha_1}$ y $\beta_2 = \frac{(q+2)\alpha_2 - 2(q+4)\alpha_1}{2(\alpha_2 - 2\alpha_1)}$.

Se puede demostrar que $E(T_{MB}) = q + O(n_{min}^{-2})$ y $E(T_{MB}^2) = q(q+2) + O(n_{min}^{-2})$. Con lo anterior se puede esperar que T_{MB} converja para la distribución χ_q^2 , a una mayor rapidez que la del estadístico W .

En aplicaciones con datos reales, β_1 y β_2 deben ser reemplazados por sus estimadores. Los estimadores adecuados se obtienen mediante la sustitución de Δ por su estimador

$$\widehat{\Delta} = \sum_{l=1}^a \left[\frac{\widehat{\sigma}_l^2}{n_l} \widehat{\mathbf{h}}_l' \widehat{\mathbf{h}}_l \right]^2 / (n_l - 1) = \sum_{l=1}^a \left[\frac{\widehat{\sigma}_l^2}{n_l} \mathbf{c}_l' (\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1} \mathbf{c}_l \right]^2 / (n_l - 1), \quad (3.20)$$

donde $\widehat{\mathbf{h}}_l = (\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}')^{-1/2} \mathbf{c}_l$, $l = 1, 2, \dots, a$. Los estimadores $\widehat{\alpha}_1, \widehat{\alpha}_2, \widehat{\beta}_1, \widehat{\beta}_2$ se obtienen en consecuencia para que

$$\widehat{T}_{MB} = (n_{min}\widehat{\beta}_1 + \widehat{\beta}_2) \log \left(1 + \frac{W}{n_{min}\widehat{\beta}_1} \right) \sim \chi_q^2 \quad \text{aproximadamente.} \quad (3.21)$$

Note que

$$n_{min}\widehat{\beta}_1 = \frac{q(q+2)}{3\widehat{\Delta}} \quad y$$

$$n_{min}\widehat{\beta}_1 + \widehat{\beta}_2 = \frac{(q+2)(2q - \widehat{\Delta})}{6\widehat{\Delta}}.$$

A partir de la prueba del Teorema 2, se puede observar fácilmente que el rango de Δ es igual al rango de $\widehat{\Delta}$. Por lo tanto, siempre que $n_{min} \geq 2$, se tendrá que $n_{min}\widehat{\beta}_1 > 0$ y $n_{min}\widehat{\beta}_1 + \widehat{\beta}_2 > 0$. Esto garantiza que \widehat{T}_{MB} sea una función no negativa y monótonamente creciente de W .

El valor crítico de la prueba BM se puede especificar a través de una χ_q^2 . Para cualquier nivel de significancia α dado, se rechaza la hipótesis nula cuando este valor es excedido por \hat{T}_{MB} . De otra forma, la aplicación del test modificado de Bartlett puede llevarse a cabo mediante el cálculo del p -valor basado en la distribución χ_q^2 .

Algunas propiedades estadísticas de T_{MB}

Como se mencionó anteriormente la matriz de contrastes C no es única. El siguiente teorema muestra que el estadístico T_{MB} es invariante a diferentes especificaciones de C para el mismo sistema de hipótesis a probar.

Teorema 3. *Sean C y \tilde{C} dos matrices de contraste especificando la misma hipótesis, el estadístico T_{MB} es invariante cuando C y c en (3.12) son reemplazadas por*

$$\tilde{C} = PC \quad \text{y} \quad \tilde{c} = Pc, \quad (3.22)$$

respectivamente, donde P es cualquier matriz no singular.

También es deseado que un buen estadístico sea invariante bajo diferentes rotulaciones de las a medias poblaciones.

Teorema 4. *El estadístico T_{MB} es invariante bajo diferentes rotulaciones de las medias poblaciones $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_a$.*

Ver demostraciones en el Apéndice 1.

Capítulo 4

Estudio de simulación

A continuación se presenta un estudio de simulación tipo Monte Carlo en el cual se estima el tamaño nominal ($\alpha = 0,05$) y la potencia de los cuatro estadísticos discutidos en el capítulo anterior, para contrastar el sistema de hipótesis (2.6).

En las Tablas 4.1 a 4.4 se presentan los resultados de las simulaciones para diferentes valores de n_i , $i = 1, 2, \dots, a$, para $a = 2$, $a = 3$, $a = 5$ y $a = 10$ tratamientos. Además para cada caso se consideran diferentes valores de σ_i^2 , $i = 1, 2, \dots, a$; se generaron 1000 simulaciones y 1000 réplicas bootstrap. En cada tabla, las dos primeras columnas contienen el número de réplicas de cada tratamiento almacenadas en el vector \mathbf{n} y las varianzas poblacionales guardadas en el vector $\boldsymbol{\sigma}^2$, respectivamente. Los valores en las columnas denominadas como “Wald”, “Welch”, “BP” y “BM”, corresponden a las estimaciones del nivel de significancia nominal (o tamaño de la prueba), en cuyo caso $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a = 0$, y a las estimaciones de la potencia de la prueba en cuyo caso $\mu_l \neq \mu_k$, para los estadísticos de Welch, Bootstrap Paramétrico y Bartlett Modificado.

Cabe aclarar que la notación $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a = 0$, indica que la hipótesis nula de igualdad de las medias teóricas es verdadera, en cuyo caso se estima el tamaño de la prueba, es decir, la probabilidad $\alpha = P(\text{Rech } H_0 | H_0 \text{ es Verdadera})$.

Utilizando un tamaño nominal o nivel de significancia α fijo del 5 %, se espera que los

Tabla 4.1: Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 2 tratamientos

n	σ^2	$\mu_1 = \mu_2 = 0$				$\mu = (2, 1)$		
		Wald	Welch	BP	BM	Welch	BP	BM
(2,18)	(1,1)	0.195	0.106	0.126	0.104	0.235	0.303	0.227
	(1,2)	0.184	0.110	0.128	0.107	0.220	0.271	0.211
	(2,1)	0.257	0.119	0.154	0.116	0.176	0.236	0.168
	(3,1)	0.252	0.115	0.151	0.112	0.134	0.190	0.128
	(3,2)	0.235	0.122	0.154	0.119	0.143	0.182	0.141
	(4,1)	0.272	0.129	0.161	0.124	0.143	0.194	0.136
	(4,2)	0.229	0.120	0.160	0.116	0.159	0.205	0.154
(4, 16)	(1,1)	0.098	0.060	0.061	0.060	0.341	0.359	0.333
	(1,2)	0.078	0.053	0.056	0.052	0.305	0.329	0.303
	(2,1)	0.100	0.059	0.062	0.059	0.196	0.222	0.191
	(3,1)	0.128	0.054	0.064	0.053	0.152	0.164	0.148
	(3,2)	0.088	0.056	0.051	0.049	0.162	0.176	0.159
	(4,1)	0.093	0.058	0.053	0.052	0.129	0.138	0.127
	(4,2)	0.098	0.059	0.055	0.053	0.137	0.144	0.135
(6, 14)	(1,1)	0.083	0.053	0.056	0.052	0.466	0.467	0.465
	(1,2)	0.077	0.053	0.053	0.052	0.367	0.364	0.366
	(2,1)	0.088	0.060	0.064	0.060	0.292	0.296	0.290
	(3,1)	0.094	0.059	0.053	0.052	0.206	0.210	0.204
	(3,2)	0.089	0.045	0.051	0.048	0.190	0.196	0.187
	(4,1)	0.091	0.056	0.053	0.051	0.189	0.198	0.185
	(4,2)	0.092	0.057	0.055	0.053	0.168	0.170	0.166
(10, 10)	(1,1)	0.064	0.051	0.052	0.051	0.542	0.542	0.542
	(1,2)	0.067	0.049	0.050	0.049	0.405	0.403	0.405
	(2,1)	0.069	0.052	0.049	0.052	0.414	0.409	0.414
	(3,1)	0.071	0.053	0.050	0.050	0.300	0.296	0.300
	(3,2)	0.065	0.051	0.049	0.049	0.264	0.258	0.264
	(4,1)	0.068	0.051	0.050	0.050	0.245	0.250	0.245
	(4,2)	0.072	0.047	0.049	0.048	0.235	0.238	0.234

valores estimados de α sean próximos a 0,05. La notación $\mu_l \neq \mu_k$, indica que las medias teóricas difieren en una unidad, en cuyo caso se debe optar por la hipótesis alternativa y se estima la potencia de la prueba $P(\text{Rech } H_0 | H_1 \text{ es Verdadera})$ siendo ideal que los valores estimados se acerquen a 1.

La Tabla 4.1 muestra los resultados para $a = 2$ tratamientos, considerando 4 especificaciones de \mathbf{n} , donde n_{min} empieza en 2 y se va incrementando hasta 10. Para cada \mathbf{n} se consideraron siete casos de σ^2 . Se puede observar que cuando n_{min} es pequeño, ninguna de las pruebas funcionan bien ya que los cuatro estadísticos sobreestiman el tamaño, todas las estimaciones de α son mucho mayores del valor nominal 0,05. Cuando n_{min} aumenta, la estimación del tamaño se acerca más a 0,05 pero el estadístico de Wald sigue sobreestimando este valor nominal. En particular cuando $n_{min} = 10$, los estadísticos de Welch, BP y MB alcanzan tamaños estimados muy cercanos a 0,05, lo cual es de esperarse una vez que los resultados teóricos son asintóticos. En cuanto a la potencia de la prueba, en ningún caso la potencia estimada es cercana a 1, lo cual se debe a que cuando $\mu_1 = 2$ y $\mu_2 = 1$ aunque los cuatro estadísticos detectan las diferencias entre las medias, por la cercanía entre las medias teóricas, la probabilidad $P(\text{Rech } H_0 | H_1 \text{ es Verdadera})$ no es cercana a 1 como se desearía.

Los resultados de simulación para $a = 3$ tratamientos aparecen en la Tabla 4.2, y son análogos al caso de $a = 2$ tratamientos. Se consideraron 4 especificaciones para \mathbf{n} y 6 para σ^2 . A medida que n_{min} aumenta, las estimaciones del tamaño nominal de los estadísticos mejoraron, pero la convergencia del estadístico de Wald sigue siendo lenta comparado con Welch, BP y BM.

La Tabla 4.3, muestra los resultados de la simulación para cinco tratamientos. Fueron considerados cuatro casos para \mathbf{n} y cinco casos para σ^2 . En todos los casos el estadístico de Wald sobreestima el tamaño nominal de 0,05. El estadístico de Welch sobreestima el tamaño para valores menores a 10 en el vector \mathbf{n} . En general, los estadísticos del BP y del MB presentan valores similares para la estimación del tamaño y el poder. En términos de la potencia, la prueba BP y BM se acercan a 1 cuando no todas las σ_i son diferentes.

Finalmente, la Tabla 4.4 muestra los resultados de las simulaciones para diez tratamientos. En particular, en la Tabla 4.4 se utiliza la notación \mathbf{n}_r para indicar que los valores

Tabla 4.2: Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 3 tratamientos

\mathbf{n}	σ^2	$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = 0$				$\mu = (2, 2, 1)$		
		Wald	Welch	BP	BM	Welch	BP	BM
(2,7,18)	(1,1,1)	0.238	0.123	0.135	0.114	0.287	0.331	0.247
	(1,1,2)	0.202	0.105	0.117	0.101	0.240	0.286	0.212
	(1,2,3)	0.172	0.089	0.093	0.086	0.209	0.237	0.196
	(2,2,1)	0.257	0.113	0.129	0.105	0.219	0.250	0.191
	(2,1,1)	0.240	0.100	0.118	0.096	0.245	0.271	0.207
	(3,1,1)	0.281	0.127	0.137	0.117	0.214	0.232	0.170
(4,7,16)	(1,1,1)	0.121	0.063	0.064	0.060	0.475	0.474	0.447
	(1,1,2)	0.116	0.062	0.057	0.057	0.345	0.345	0.325
	(1,2,3)	0.107	0.046	0.046	0.044	0.224	0.233	0.218
	(2,2,1)	0.125	0.053	0.054	0.051	0.290	0.295	0.271
	(2,1,1)	0.137	0.066	0.065	0.057	0.395	0.377	0.358
	(3,1,1)	0.140	0.069	0.066	0.063	0.374	0.362	0.351
(6,7,14)	(1,1,1)	0.088	0.053	0.049	0.048	0.501	0.503	0.491
	(1,1,2)	0.095	0.054	0.054	0.051	0.372	0.366	0.366
	(1,2,3)	0.096	0.049	0.048	0.048	0.261	0.261	0.254
	(2,2,1)	0.107	0.056	0.058	0.054	0.349	0.351	0.340
	(2,1,1)	0.076	0.041	0.039	0.036	0.450	0.447	0.436
	(3,1,1)	0.100	0.053	0.046	0.048	0.408	0.407	0.398
(10,10,10)	(1,1,1)	0.079	0.055	0.055	0.053	0.546	0.535	0.541
	(1,1,2)	0.077	0.047	0.050	0.046	0.359	0.353	0.356
	(1,2,3)	0.087	0.051	0.049	0.049	0.242	0.244	0.239
	(2,2,1)	0.083	0.062	0.058	0.061	0.428	0.430	0.423
	(2,1,1)	0.088	0.052	0.054	0.051	0.490	0.483	0.482
	(3,1,1)	0.088	0.057	0.055	0.056	0.510	0.507	0.503

del vector \mathbf{n} se repiten r veces, es decir, $\mathbf{n}_2 = (1, 2)_2 = (1, 2, 1, 2)$, indicando que se tienen 4 tratamientos con tamaños muestrales 1, 2, 1 y 2. Esta notación se hace para reducir la notación vectorial en las columnas de la tabla. Fueron considerados cuatro casos para \mathbf{n} y cinco casos para σ^2 .

Se puede notar que para $\mathbf{n} = (15, 15, 15, 15, 15)_2$, los resultados del estadístico de Welch son cercanos a los del BP y BM en las estimaciones del tamaño, las cuales son cercanas a 0,05. Por su parte, para todas las especificaciones de σ^2 , cuando $n_{min} \geq 15$, la potencia de la prueba alcanza valores más cercanos a 1.

Tabla 4.3: Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 5 tratamientos

n	σ^2	$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = 0$				$\mu = (2, 2, 2, 1, 1)$		
		Wald	Welch	BP	BM	Welch	BP	BM
(4,4,5,5,6)	(1,1,1,1,1)	0.199	0.061	0.048	0.045	0.302	0.263	0.242
	(1,1,1,1,5)	0.187	0.063	0.049	0.047	0.225	0.187	0.170
	(1,2,3,4,5)	0.193	0.057	0.040	0.037	0.117	0.089	0.081
	(5,1,1,1,1)	0.227	0.065	0.049	0.042	0.257	0.212	0.199
	(5,4,3,2,1)	0.228	0.070	0.049	0.044	0.145	0.106	0.102
(5,5,5,5,5)	(1,1,1,1,1)	0.200	0.056	0.042	0.038	0.357	0.309	0.284
	(1,1,1,1,5)	0.199	0.064	0.055	0.050	0.223	0.193	0.183
	(1,2,3,4,5)	0.217	0.065	0.055	0.050	0.126	0.102	0.097
	(5,1,1,1,1)	0.192	0.059	0.050	0.047	0.262	0.229	0.209
	(5,4,3,2,1)	0.199	0.072	0.058	0.048	0.161	0.136	0.135
(5,5,5,10,10)	(1,1,1,1,1)	0.160	0.048	0.034	0.037	0.448	0.417	0.411
	(1,1,1,1,5)	0.156	0.073	0.068	0.061	0.400	0.361	0.351
	(1,2,3,4,5)	0.150	0.060	0.046	0.052	0.182	0.157	0.157
	(5,1,1,1,1)	0.189	0.078	0.064	0.062	0.377	0.342	0.332
	(5,4,3,2,1)	0.177	0.059	0.048	0.046	0.211	0.179	0.177
(15,15,15,15,15)	(1,1,1,1,1)	0.089	0.059	0.056	0.057	0.916	0.912	0.914
	(1,1,1,1,5)	0.077	0.047	0.044	0.045	0.781	0.774	0.777
	(1,2,3,4,5)	0.091	0.048	0.052	0.047	0.384	0.382	0.378
	(5,1,1,1,1)	0.082	0.039	0.048	0.045	0.863	0.853	0.859
	(5,4,3,2,1)	0.081	0.043	0.039	0.040	0.519	0.509	0.511

Una conclusión general de este estudio de simulación es que para muestras finitas, si el $n_{min} \geq 15$, el tamaño nominal y el poder van alcanzando las estimaciones deseadas, esto es los estadísticos de Welch, BP y MB van alcanzando la convergencia a sus distribuciones asintóticas.

Tabla 4.4: Estimación del tamaño y la potencia para el ANOVA con 10 tratamientos

n	σ^2	$\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a = 0$				$\mu = (2, 2, 2, 1, 1)_2$		
		Wald	Welch	BP	BM	Welch	BP	BM
$(4, 4, 5, 5, 6)_2$	$(1, 1, 1, 1, 1)_2$	0.351	0.091	0.040	0.049	0.481	0.308	0.327
	$(1, 1, 1, 1, 5)_2$	0.331	0.087	0.052	0.054	0.384	0.250	0.265
	$(1, 2, 3, 4, 5)_2$	0.339	0.085	0.046	0.050	0.239	0.141	0.155
	$(5, 1, 1, 1, 1)_2$	0.341	0.097	0.047	0.054	0.403	0.231	0.258
	$(5, 4, 3, 2, 1)_2$	0.367	0.109	0.048	0.059	0.280	0.144	0.167
$(5, 5, 5, 5, 5)_2$	$(1, 1, 1, 1, 1)_2$	0.321	0.071	0.039	0.042	0.514	0.357	0.372
	$(1, 1, 1, 1, 5)_2$	0.302	0.080	0.038	0.040	0.442	0.299	0.317
	$(1, 2, 3, 4, 5)_2$	0.315	0.085	0.039	0.046	0.255	0.156	0.160
	$(5, 1, 1, 1, 1)_2$	0.329	0.093	0.055	0.060	0.468	0.329	0.345
	$(5, 4, 3, 2, 1)_2$	0.321	0.080	0.042	0.048	0.229	0.146	0.157
$(5, 5, 5, 10, 10)_2$	$(1, 1, 1, 1, 1)_2$	0.243	0.086	0.054	0.060	0.688	0.579	0.615
	$(1, 1, 1, 1, 5)_2$	0.256	0.079	0.040	0.057	0.552	0.419	0.454
	$(1, 2, 3, 4, 5)_2$	0.238	0.074	0.047	0.048	0.310	0.220	0.244
	$(5, 1, 1, 1, 1)_2$	0.271	0.081	0.052	0.058	0.608	0.473	0.519
	$(5, 4, 3, 2, 1)_2$	0.254	0.089	0.050	0.056	0.378	0.246	0.297
$(15, 15, 15, 15, 15)_2$	$(1, 1, 1, 1, 1)_2$	0.099	0.043	0.044	0.041	0.985	0.978	0.983
	$(1, 1, 1, 1, 5)_2$	0.102	0.055	0.046	0.049	0.974	0.972	0.972
	$(1, 2, 3, 4, 5)_2$	0.112	0.053	0.048	0.047	0.776	0.759	0.764
	$(5, 1, 1, 1, 1)_2$	0.125	0.060	0.056	0.055	0.987	0.983	0.982
	$(5, 4, 3, 2, 1)_2$	0.106	0.051	0.051	0.047	0.794	0.779	0.789

Capítulo 5

Aplicación

La toxoplasmosis es una enfermedad causada por el parásito intracelular *Toxoplasma gondii* descubierto por Charles Nicolle y Manceaux en 1908 y es una de las zoonosis parasitarias más comunes a nivel mundial, el cual infecta a todas las especies animales de sangre caliente incluyendo al humano. El hombre adquiere la infección por diferentes rutas: mediante la ingestión de quistes tisulares presentes en carne mal cocida proveniente de animales infectados, o de ooquistes liberados en las heces de gatos que contaminan hortalizas o fuentes de agua potable (Dubey, 1996). Una tercera ruta de infección es la vía transplacentaria de la madre al feto. Es una enfermedad benigna o asintomática cuando afecta a niños o adultos, sin embargo en fetos o en pacientes inmunodeprimidos las consecuencias pueden ser graves (Remington 2001, Oréface 2000).

Debido a que la toxoplasmosis es una de las zoonosis más importantes en el humano con severas consecuencias en la salud de la población, organizaciones de Salud Pública en algunos países han incluido dentro de sus medidas de sanidad la evaluación epidemiológica de la toxoplasmosis en animales y humanos. Entre las patologías que se presentan por toxoplasmosis están: encefalitis, coriorretinitis, ceguera y linfadenopatía. Particularmente en mujeres embarazadas, *Toxoplasma* alcanza y atraviesa la placenta alojándose en el feto en el cual puede producir aborto o inducir malformaciones, hidrocefalia, macro o microcefalia y lesiones oculares. La infección con *Toxoplasma* no muestra diferencias entre género, raza y distribución geográfica (Botero 1992, Kasper 1998).

En la mayoría de los casos de pacientes inmuno-comprometidos incluyendo aquellos con SIDA, *Toxoplasma* se establece en el cerebro desarrollando encefalitis toxoplásmica, la cual es la principal causa de mortalidad especialmente en países de pocos recursos (Luft, 1993).

La respuesta inmune a la infección por *T. gondii* puede variar considerablemente dependiendo de la presentación clínica de la enfermedad. La respuesta inmune local y sistémica puede variar entre individuos y parece que la respuesta inmune depende fuertemente del componente genético y del estado general del sistema inmune del hospedero.

El ciclo de vida del parásito se desarrolla en dos tipos de huéspedes: el huésped definitivo que comprende todos los felinos, incluido el gato doméstico, y el huésped intermediario, que son todos los animales de sangre caliente (incluido el humano) (Tenter, 2000). Dependiendo del tipo de huésped se puede llevar a cabo la replicación sexual o asexual. El ciclo de replicación sexual inicia cuando algún felino ingiere una presa infectada con quistes tisulares (forma infectiva que contiene al bradizoíto). Por acción de las enzimas digestivas intestinales se liberan las formas infectivas del parásito que invaden a los enterocitos del intestino del felino. En el intestino es donde se lleva a cabo un proceso de desarrollo y diferenciación celular conocido como gametogonia, proceso sexual de reproducción celular que conduce a la formación del ooquiste (Botero 1992, Kasper 1998). El ooquiste es liberado en forma no esporulada a través de las heces de los felinos y expuesto al medio ambiente, en donde bajo condiciones adecuadas esporula en 2-3 días produciendo en su interior 8 esporozoítos; el ooquiste así maduro se convierte en la forma infecciosa. Millones de ooquistes son producidos y liberados por los felinos a través de las heces, contaminando suelo, hortalizas y fuentes de agua (Dubey 1997, Boothroyd 1998). El ciclo de replicación asexual se desarrolla en los huéspedes intermediarios, los cuales pueden infectarse mediante el consumo de ooquistes esporulados o de quistes tisulares presentes en los tejidos de otros huéspedes intermediarios (Jerome, 1998).

En el caso del hombre, la infección puede ser por la ingestión directa de los ooquistes o por la ingestión de carne mal cocida, contaminada por quistes tisulares de *Toxoplasma*. Una vez ingerido el ooquiste ó el quiste tisular, se liberan los esporozoítos y los bradizoítos respectivamente, los cuales rápidamente se diferencian a taquizoítos, la forma móvil, altamente dinámica e invasiva que atraviesa eficientemente el epitelio intestinal,

diseminándose a través de todo el organismo (Kasper 1998, Masur 1994). La presencia del parásito en el organismo activa la respuesta inmune del huésped con la formación de anticuerpos y la activación de células efectoras de la respuesta inmune celular como macrófagos, linfocitos T, etc; con la consecutiva liberación de citoquinas como interleuquinas e interferón- γ (IFN- γ). La presencia de IFN- γ es uno de los componentes que se ha descrito que inducen la diferenciación de los taquizoítos intracelulares a la forma de bradizoíto con la consecutiva modificación de la célula hospedera en un quiste tisular en el cual vive en una forma latente durante muchos años o incluso durante toda la vida del individuo.

En casos de inmunosupresión como en los individuos infectados con el VIH, el parásito puede re-emergir del quiste tisular, diferenciarse de nuevo a taquizoíto e iniciar su diseminación tisular alcanzando incluso el encéfalo y provocar la muerte del individuo (Kasper 1998).

Dependiendo de la etapa del ciclo celular, *Toxoplasma* presenta las formas parasitarias: 1) Ooquiste, 2) Esporozoíto, 3) Quiste tisular, 4) Bradizoíto y 5) Taquizoíto.

Interleuquinas

Una interleuquina, interleucina o citocina es una proteína producida naturalmente que cumple una función de comunicación entre las células principalmente los linfocitos (Akdis, 2011). Las interleucinas regulan el crecimiento celular, la diferenciación y la motilidad. Estas son particularmente importantes en la estimulación de las respuestas inmunes, como la inflamación. El perfil de expresión de una citocina depende de la activación celular por un antígeno, el estatus de las células T, su interacción con una célula presentadora de antígeno y el microambiente de citocinas (Akdis, 2011).

Debido a que las citocinas juegan un papel muy importante en la evolución de los procesos inflamatorios, se ha propuesto su estudio detallado con el fin de componentes claves en diferentes patologías como el cáncer y enfermedades asociadas con inflamación crónica. El análisis de las citocinas se puede realizar de forma individual o en forma grupal de modo que se pueda evidenciar su papel biológico (Costantini, 2010). Debido a que las citocinas son la forma de comunicación entre las células, sus niveles se deben mantener

en un delicado balance, lo cual es vital para la estabilidad de un organismo; por lo tanto, cuándo esta estrecha relación se rompe, se presentan alteraciones clínicas de importancia como las asociadas con inflamación (Hafler, 2007).

De la gran cantidad de citocinas que existen se encuentra la interleucina 17. Esta es una citocina proinflamatoria que hace parte de la familia de citocinas de la respuesta Th 17. Es producida por las células T ayudadoras y es inducida por la IL-23 (Starnes, 2002). La señalización por IL-17 recluta monocitos y neutrófilos al lugar de inflamación en respuesta a la invasión por patógenos, de forma similar al interferón gamma. Su papel en los procesos inflamatorios se da en sinergia con el factor de necrosis tumoral y la interleucina 1 (Chiricozzi 2011 y Miossec 2009). La actividad de esta citocina también puede ser dirigida al propio organismo y resultar en varios desordenes autoinmunes que involucran inflamación crónica (Martin, 2013). Por lo tanto, la función más importante de la IL-17 es inducir y mediar respuestas inflamatorias y también está relacionada con una subpoblación de linfocitos T CD4+ llamados los linfocitos T ayudadores 17 (Th17). Como resultado de sus funciones, la familia IL-17 se ha asociado a muchas enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide, asma, lupus, rechazo a trasplantes, actividad antitumoral y psoriasis (Martin 2013 y Akdis 2011).

En la toxoplasmosis, las células Th17 contribuyen a la respuesta inflamatoria durante la infección por parte del parásito (Korn, 2009). En Colombia hay reportes que muestran que la IL-17 en niveles intraoculares de pacientes con toxoplasmosis ocular se encuentra disminuida, lo que contrasta con la infección toxoplásmica en Europa y Estados Unidos (Sauer, 2013).

También, dentro de las citocinas se encuentra la interleucina 5 (IL-5), que es producida por linfocitos T y los mastocitos. Sus funciones son estimular el crecimiento de linfocitos B y aumentar la secreción de células productoras de anticuerpos. Es sorprendente observar que en toxoplasmosis, esta citoquina es capaz de aumentar la producción de IL-12, que juega un importante papel anti-Toxoplasma durante la fase aguda de la infección.

Tabla 5.1: Resumen estadístico de los datos de la proteína IL17

Paciente	n_i	\bar{X}_i	S_i	$S_{\bar{X}_i}$
Agudo	4	540,40	68,37	34,18
Congénito	14	317,93	99,37	26,56
Crónico	8	351,72	177,56	62,77
Negativo	7	346,90	123,67	46,74
Ocular	5	488,33	58,91	26,34

Tabla 5.2: p -valores de los estadísticos de prueba para la proteína IL17

Test	F	Wald	Welch	BP	MB
p -valor	0,0090	0,00000014	0,0017	0,004	0,0029

5.1. Análisis de la proteína Interleuquina IL17

Se tomaron 38 registros de la proteína interleuquina 17 medida en cinco tipos de pacientes con toxoplasmosis: Negativo, Agudo, Crónico, Ocular y Congénito; los pacientes eran 20 colombianos y 18 americanos. Los registros aparecen en la Tabla 8.1 del Apéndice 2. La Tabla 5.1 muestra un resumen estadístico de los datos donde aparecen el tamaño muestral, la media, la desviación estándar y el error estándar muestral para cada tratamiento.

Un test de Cochran se aplicó para verificar la igualdad de las varianzas poblacionales y a un nivel de significancia del 5 %, se rechaza dicha hipótesis ya que se obtuvo un p -valor de 0,032. En la Tabla 5.2 aparecen los p -valores para la prueba de la igualdad de medias del modelo ANOVA (2.5) con $a = 5$ tratamientos considerando primero la igualdad de varianzas, es decir utilizando el estadístico F , y luego sin asumir la hipótesis de igualdad de varianzas, es decir aplicando los cuatro estadísticos del Capítulo 3. Como era de esperarse todos los p -valores son menores de 0,05 y conducen a rechazar la hipótesis de que la expresión media de IL17 en los distintos tipos de paciente son iguales. Finalmente, se aplicaron las pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Anderson-Darling a los residuales del modelo. Los p -valores de estas pruebas fueron mayores de 0,05 por lo que no se puede rechazar la hipótesis de normalidad residual.

Tabla 5.3: Resumen estadístico de los datos de la proteína IL5

Paciente	n_i	\bar{X}_i	S_i	$S_{\bar{X}_i}$
Agudo	3	13,58	4,49	2,59
Congénito	5	9,95	1,08	0,48
Crónico	4	6,74	2,50	1,25
Negativo	4	10,02	4,53	2,26
Ocular	4	13,84	4,86	2,43

Tabla 5.4: p -valores de los estadísticos de prueba para la proteína IL5

Test	F	Wald	Welch	BP	MB
p -valor	0,086	0,027	0,209	0,275	0,237

5.2. Análisis de la proteína Interleuquina IL5

Para este caso se analizaron solamente los 20 registros de la proteína interleuquina 5 medida en los distintos tipos de pacientes colombianos. Los registros aparecen en la Tabla 8.2 del Apéndice 2. La Tabla 5.3 contiene el tamaño muestral, la media, la desviación estándar y el error estándar muestral para cada tratamiento.

Para verificar la igualdad de varianzas por grupo de pacientes, se aplicaron las pruebas clásicas de Cochran y de Bartlett cuyos p -valores fueron mayores de 0,10, no rechazando dicha hipótesis. En la Tabla 5.4 aparecen los p -valores para la prueba de la igualdad de medias del modelo ANOVA (2.5) con $a = 5$ tratamientos para los datos de IL5 considerando tanto la igualdad (prueba F) como la diferencia en las varianzas. Note que, excepto por el estadístico de Wald, en los demás casos, todos los p -valores dieron mayores de 0,05, conduciendo al no rechazo de la hipótesis de que la expresión media de la proteína IL5 para los cinco tipos de paciente son iguales. Las pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Anderson-Darling aplicada a los residuales del modelo dieron p -valores mayores de 0,05 por lo que no se puede rechazar la hipótesis de normalidad residual.

Capítulo 6

Conclusiones y trabajos futuros

- El estudio de simulación muestra que si el $n_{min} \geq 15$ el tamaño y el poder van alcanzando las estimaciones deseadas de 0,05 para α y cercanas a 1 para la potencia de la prueba. A pesar de que las distribuciones de los estadísticos bajo la hipótesis nula son asintóticas, este número no es muy alto.
- La aplicación mostró que los estadísticos detectan las diferencias o no entre los niveles medios de expresión de las interleuquinas en pacientes con diferentes tipos de toxoplasmosis, en cuyo caso los niveles medios de la IL17 consiguen caracterizar los tipos de toxoplasmosis.
- Tanto en el estudio de simulación como en las aplicaciones de las pruebas se observó que si los tamaños muestrales por tratamiento son muy pequeños, los estadísticos no siempre detectan las diferencias entre las medias, esto debido a que sus distribuciones son de tipo asintótico.
- Como trabajo futuro se propone estudiar el problema de BF en el ANOVA de dos o más factores, para el MANOVA y para el ANOVA funcional, como también disponibilizar programas computacionales para R o MATLAB que viabilicen su aplicación.

Capítulo 7

Apéndice 1

7.1. Prueba del Teorema 1

Bajo las condiciones dadas, se tiene que

$$\widehat{\sigma}_i^2 \sim \sigma_i^2 \chi_{n_i-1}^2 / (n_i - 1), \quad i = 1, 2, \dots, a, \quad (7.1)$$

donde $X \sim Y$ medias X y Y tienen la misma distribución. Se deduce que $(\widehat{\sigma}_i^2 - \sigma_i^2)/n_i = O_p(n_i^{-3/2})$, $i = 1, 2, \dots, a$. Por lo tanto $\widehat{\Sigma} - \Sigma = O_p(n_{\min}^{-3/2})$. Note que $\Sigma = O(n_{\min}^{-1})$, además se tiene que

$$\mathbf{R} = \mathbf{H}(\widehat{\Sigma} - \Sigma)\mathbf{H}' = O_p(n_{\min}^{-1/2}), \quad (7.2)$$

donde $\mathbf{H} = (\mathbf{C}\Sigma\mathbf{C}')^{-1/2}\mathbf{C}$ y $\mathbf{H} = O(n_{\min}^{1/2})$. Esto implica que

$$\mathbf{V} = \mathbf{I}_q + \mathbf{H}(\widehat{\Sigma} - \Sigma)\mathbf{H}' = \mathbf{I}_q + \mathbf{R} = \mathbf{I}_q + O_p(n_{\min}^{-1/2}).$$

El Teorema 1 viene del teorema de Slutsky y del hecho que bajo H_0 , $\mathbf{z}'\mathbf{z} \sim \chi_q^2$. ■

7.2. Prueba del Teorema 2

Note que bajo H_0 , se tiene que $\mathbf{z} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}_q)$. Aplicando el concepto de esperanza condicional y algunos pasos sencillos del álgebra conlleva a

$$E(W) = Etr(\mathbf{V}^{-1}) \quad y \quad E(W^2) = 2Etr(\mathbf{V}^{-2}) + Etr^2(\mathbf{V}^{-1}), \quad (7.3)$$

donde $E^2(X) = [E(X)]^2$, $tr^2(Y) = [tr(Y)]^2$ y $tr(Y)$ denota la traza de Y , es decir, la suma de las entradas de la diagonal de Y .

De la prueba del Teorema 1, se tiene que $\mathbf{V} = \mathbf{I}_q + \mathbf{R}$ con $\mathbf{R} = O_p(n_{min}^{-1/2})$; ver (7.2). Luego se tiene que $\mathbf{V}^{-1} = (\mathbf{I}_q + \mathbf{R})^{-1} = \mathbf{I}_q - \mathbf{R} + \mathbf{R}^2 - \mathbf{R}^3 + O_p(n_{min}^{-2})$ y $\mathbf{V}^{-2} = (\mathbf{I}_q + \mathbf{R})^{-2} = \mathbf{I}_q - 2\mathbf{R} + 3\mathbf{R}^2 - 4\mathbf{R}^3 + O_p(n_{min}^{-2})$. Se puede observar de (7.2) que $E(\mathbf{R}) = \mathbf{0}$ y $Etr(\mathbf{R}) = 0$. Por lo tanto

$$\begin{aligned} Etr(\mathbf{V}^{-1}) &= q + Etr(\mathbf{R}^2) - Etr(\mathbf{R}^3) + O(n_{min}^{-2}), \\ Etr(\mathbf{V}^{-2}) &= q + 3Etr(\mathbf{R}^2) - 4Etr(\mathbf{R}^3) + O(n_{min}^{-2}), \\ Etr^2(\mathbf{V}^{-1}) &= q^2 + Etr^2(\mathbf{R}) + 2qEtr(\mathbf{R}^2) - 2qEtr(\mathbf{R}^3) - 2Etr(\mathbf{R})tr(\mathbf{R}^2) + O(n_{min}^{-2}). \end{aligned} \quad (7.4)$$

Por (7.2), se tiene que $\mathbf{R} = \sum_{i=1}^a \mathbf{h}_i \mathbf{h}_i' u_i$, donde h_i es la i -ésima columna de \mathbf{H} y $u_i = \frac{\hat{\sigma}_i^2 - \sigma_i^2}{n_i}$, para $i = 1, 2, \dots, a$. Por (7.1), se tiene que

$$E(u_i) = 0, \quad E(u_i^2) = \frac{2\sigma_i^4}{n_i^2(n_i - 1)}, \quad y \quad E(u_i^3) = \frac{8\sigma_i^6}{n_i^3(n_i - 1)^2}, \quad i = 1, 2, \dots, a, \quad (7.5)$$

donde se utiliza el hecho que $E(\chi_d^2/d - 1)^3 = 8/d^2$. Note que u_1, u_2, \dots, u_a son independientes y por (7.5) se tiene que

$$\begin{aligned}
Etr(\mathbf{R}^2) &= Etr^2(\mathbf{R}) = \sum_{i=1}^a (\mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i)^2 E(u_i^2) = 2\Delta, \\
Etr(\mathbf{R}^3) &= Etr(\mathbf{R})tr(\mathbf{R}^2) = \sum_{i=1}^a (\mathbf{h}_i \mathbf{h}'_i)^3 E(u_i^3) \\
&= 8 \sum_{i=1}^a \left[\frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i \right]^3 (n_i - 1)^{-2} = O(n_{min}^{-2}),
\end{aligned} \tag{7.6}$$

donde $\Delta = \sum_{i=1}^a \left[\frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i \right]^2 / (n_i - 1)$.

La combinación de (7.4) y (7.6) da como resultado que

$$Etr(\mathbf{V}^{-1}) = q + 2\Delta + O(n_{min}^{-2}), \quad Etr(\mathbf{V}^{-2}) = q + 6\Delta + O(n_{min}^{-2}),$$

y

$$Etr^2(\mathbf{V}^{-1}) = q^2 + (8q + 2)\Delta + O(n_{min}^{-2}).$$

Lo anterior junto con (7.3) conlleva a que

$$E(W) = q \left[1 + \frac{\alpha_1}{n_{min}} \right] + O(n_{min}^{-2}) \quad y \quad E(W^2) = q(q + 2) \left[1 + \frac{\alpha_2}{n_{min}} \right] + O(n_{min}^{-2}),$$

donde $\alpha_1 = \frac{2n_{min}}{q} \Delta$ y $\alpha_2 = \frac{(14+4q)n_{min}}{q(q+2)} \Delta$ como se deseaba.

En lo que sigue hallamos las cotas inferior y superior de Δ como aparecen en (3.19).

Para $i = 1, 2, \dots, a$, sea $\mathbf{S}_i = \frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}_i \mathbf{h}'_i$. Se puede observar que \mathbf{S}_i es no negativo y solo tiene un valor propio no nulo $\delta_i = \frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i$. Se puede verificar que $\sum_{i=1}^a \mathbf{S}_i = \mathbf{I}_q$ así que $\sum_{i=1}^a \delta_i = \sum_{i=1}^a \frac{\sigma_i^2}{n_i} \mathbf{h}'_i \mathbf{h}_i = tr(\sum_{i=1}^a \mathbf{S}_i) = q$ y $\mathbf{I}_q - \mathbf{S}_i = \sum_{r \neq i} \mathbf{S}_r$. Por lo tanto $\mathbf{I}_q - \mathbf{S}_i$ es no negativo, lo que demuestra que el único valor propio no nulo δ_i de \mathbf{S}_i es menor que 1. Se deduce que $\Delta = \sum_{i=1}^a \delta_i^2 / (n_i - 1) \leq q / (n_{min} - 1)$ y $\Delta = \sum_{i=1}^a \delta_i^2 / (n_i - 1) \geq \sum_{i=1}^a \delta_i^2 / (n_{max} - 1) \geq q^2 / [(n_{max} - 1)a]$ donde se utiliza el hecho de que para cualquier número no negativo b_1, b_2, \dots, b_m , siempre se tiene que $\sum_{i=1}^m b_i^2 \geq (\sum_{i=1}^m b_i)^2 / m$. ■

7.3. Prueba del Teorema 3

De la definición (3.15) de W , se puede observar que W es invariante bajo la transformación (3.22). Luego por (3.21), solo se necesita demostrar que $\widehat{\Delta}$ es invariante bajo la transformación (3.22). Para $i = 1, 2, \dots, a$, sea \mathbf{c}_i y $\tilde{\mathbf{c}}_i$ las i -ésimas columnas de las matrices de contraste \mathbf{C} y $\tilde{\mathbf{C}} = \mathbf{P}\mathbf{C}$ respectivamente. Luego se puede observar que $\tilde{\mathbf{c}}_i = \mathbf{P}\mathbf{c}_i$, $i = 1, 2, \dots, a$, y se deduce de (3.20) que

$$\begin{aligned}\widehat{\Delta} &= \sum_{i=1}^a \left[\frac{\widehat{\sigma}_i^2}{n_i} \tilde{\mathbf{c}}_i' (\tilde{\mathbf{C}} \widehat{\Sigma} \tilde{\mathbf{C}}')^{-1} \tilde{\mathbf{c}}_i \right]^2 / (n_i - 1) \\ &= \sum_{i=1}^a \left[\frac{\widehat{\sigma}_i^2}{n_i} \mathbf{c}_i' \mathbf{P}' (\mathbf{P}\mathbf{C} \widehat{\Sigma} \mathbf{C}' \mathbf{P}')^{-1} \mathbf{P}\mathbf{c}_i \right]^2 / (n_i - 1) \\ &= \sum_{i=1}^a \left[\frac{\widehat{\sigma}_i^2}{n_i} \mathbf{c}_i' (\mathbf{C} \widehat{\Sigma} \mathbf{C}')^{-1} \mathbf{c}_i \right]^2 / (n_i - 1) = \widehat{\Delta}.\end{aligned}$$

7.4. Prueba del Teorema 4

El Teorema se prueba si se puede demostrar que tanto W y $\widehat{\Delta}$ son invariantes bajo diferentes rotulaciones de las medias μ_1, \dots, μ_a . Sea i_1, i_2, \dots, i_a cualquier permutación de $1, 2, \dots, a$. Luego se puede observar que $\mathbf{C}\widehat{\mu} = \sum_{i=1}^a \mathbf{c}_i \widehat{\mu}_i = \sum_{u=1}^a \mathbf{c}_{i_u} \widehat{\mu}_{i_u}$ y $\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}' = \sum_{i=1}^a n_i^{-1} \widehat{\sigma}_i^2 \mathbf{c}_i \mathbf{c}_i' = \sum_{u=1}^a n_{i_u}^{-1} \widehat{\sigma}_{i_u}^2 \mathbf{c}_{i_u} \mathbf{c}_{i_u}'$, demostrando que $\mathbf{C}\widehat{\mu}$ y $\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}'$ son invariantes bajo diferentes rotulaciones de las medias poblacionales y al igual que W .

La invariancia de $\widehat{\Delta}$ bajo diferentes rotulaciones de las medias poblacionales sigue de (3.20) directamente al notar que

$$\widehat{\Delta} = \sum_{i=1}^a (n_i - 1)^{-1} \left[\frac{\widehat{\sigma}_i^2}{n_i} \mathbf{c}_i' (\mathbf{C} \widehat{\Sigma} \mathbf{C}')^{-1} \mathbf{c}_i \right]^2 = \sum_{u=1}^a (n_{i_u} - 1)^{-1} \left[\frac{\widehat{\sigma}_{i_u}^2}{n_{i_u}} \mathbf{c}_{i_u}' (\mathbf{C} \widehat{\Sigma} \mathbf{C}')^{-1} \mathbf{c}_{i_u} \right]^2,$$

y que $\mathbf{C}\widehat{\Sigma}\mathbf{C}'$ es invariante bajo diferentes rotulaciones de las medias poblacionales. ■

Capítulo 8

Apéndice 2

Este apéndice contiene las tablas con los datos utilizados en la sección de la Aplicación. En la última columna de cada tabla aparecen los residuales del modelo ANOVA heterocedástico ajustado a cada caso

Tabla 8.1: Expresiones de interleuquina IL17 para 38 pacientes de toxoplasmosis

Paciente	IL17	$\hat{\epsilon}_i$	Paciente	IL17	$\hat{\epsilon}_i$
Neg	414,85	67,9529	Ocular	473,86	-14,472
Neg	385,69	38,7929	Ocular	443,63	-44,702
Neg	518,07	171,173	Ocular	430,13	-58,202
Neg	165,98	-180,917	Ocular	520,57	32,238
Neg	278,17	-68,7271	Ocular	573,47	85,138
Neg	236,62	-110,277	Cong	454,71	136,779
Neg	428,9	82,0029	Cong	493,11	175,179
Agudo	563,34	22,9375	Cong	417,29	99,3593
Agudo	452,24	-88,1625	Cong	379,65	61,7193
Agudo	615,43	75,0275	Cong	380,86	62,9293
Agudo	530,6	-9,8025	Cong	203,19	-114,741
Cron	90,51	-261,209	Cong	246,36	-71,5707
Cron	355,59	3,87125	Cong	338,27	20,3393
Cron	98,74	-252,979	Cong	272,35	-45,5807
Cron	583,61	231,891	Cong	294,53	-23,4007
Cron	349,01	-2,70875	Cong	283,42	-34,5107
Cron	373,02	21,3012	Cong	327,57	9,63929
Cron	466,43	114,711	Cong	162,7	-155,231
Cron	496,84	145,121	Cong	197,02	-120,911

Fuente: Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío

Tabla 8.2: Expresiones de interleuquina IL5 para los 20 pacientes Colombianos

Paciente	IL17	$\hat{\epsilon}_i$
Neg	12,51	2,4875
Neg	13,73	3,7075
Neg	10,28	0,2575
Neg	3,57	-6,4525
Agudo	11,84	-1,74
Agudo	10,22	-3,36
Agudo	18,68	5,1
Cron	4,38	-2,3625
Cron	7,35	0,6075
Cron	5,24	-1,5025
Cron	10	3,2575
Cong	11,67	-2,1725
Cong	21,03	7,1875
Cong	10,33	-3,5125
Cong	12,34	-1,5025
Ocular	9,77	-0,18
Ocular	11,45	1,5
Ocular	8,54	-1,41
Ocular	10,44	0,49
Ocular	9,55	-0,4

Fuente: Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío

Capítulo 9

Referencias Bibliográficas

Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. (2011). *Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases*. J Allergy Clin Immunol, 127(3), 701-721.

Banerjee, S. K. (1961). *On confidence intervals for two-means problem based on separate estimates of variances and tabulated values of t-table*. Sankhya, 23, 359-378.

Behrens, W. V. (1929). *Ein Beitrag zur Fehlerberechnung bei wenigen Beobachtungen*. Landw. Jb. 68, 807-837.

Bennett, B. M. (1951). *Note on a solution of the generalized Behrens-Fisher problem*. Ann. Inst. Statist. Math. 2, 87-90.

Boothroyd JC, Hehl A, Knoll LJ, Manger IE. (1998). *The surface of Toxoplasma: more and less*. Intern J Parasitol, 28, 3-9.

Botero D, Restrepo M. (1992). *Toxoplasmosis*. En: *Parasitosis Humana*. 2a ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, 231-48.

Chiricozzi A, Guttman-Yassky E, Suárez-Fariñas M, Nograles KE, Tian S, Cardinale I, (2011). *Integrative responses to IL-17 and TNF- α in human keratinocytes account for key inflammatory pathogenic circuits in psoriasis*. *J Invest Dermatol*, 131(3), 677-687.

Costantini S, Castello G, Colonna G. Human. (2010). *Cytokinome: a new challenge for systems biology*. *Bioinformatics*. 5(4), 166-167.

De la Torre A, Sauer A, Pfaff AW, Bourcier T, Brunet J, Speeg-Schatz C. (2013). *Severe South American ocular toxoplasmosis is associated with decreased *Ifn- γ /IL-17a* and increased *IL-6/IL-13* intraocular levels*. *PLoS Negl Trop Dis.*, 7(11), e2541.

Dubey JP, Frenkel JK. (1996). *Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of toxoplasma cysts*. *J Protozool*, 23, 537-46.

Dubey JP, Speer CA, Shen SK, Kwok OCH, Blixt. (1997). *Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* cyst*. *J Parasitol*, 83, 870-82

Fisher, R. A. (1935). *The fiducial argument in statistical inference*. *Ann. Eugen., Lond.* 6, 391-398.

Fujikoshi, Y. (2000). *Transformations with improved chi-squared approximations*. *Journal of Multivariate Analysis*, 72, 249-263.

Hafler DA. (2007). *Cytokines and interventional immunology*. Nat Rev Immunol., 7(6), 423.

Hotelling, H. (1931). *The Generalization of Student's Ratio*. Annals of Mathematical Statistics, 2, 360-378.

Jerome ME, Radke JR, Bohne W, Roos DS, White MW. (1998). *Toxoplasma gondii* bradizoytes form spontaneously during sporozoite-initiated development. Infect Immun, 66, 4838-44.

Kasper LH. (1998). *Toxoplasma infection*. En: Harrison's principles of internal medicine. 14 ed. New York: MacGraw-Hill Companies Inc, 1197-202.

Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. (2009). *IL-17 and Th17 Cells*. Annu Rev Immunol., 27, 485-517.

Krishnamoorthy, K., Lu, F., and Mathew, T. (2007). *A parametric bootstrap approach for ANOVA with unequal variances: Fixed and random models*. Computational Statistics & Data Analysis, 51, 5731-5742.

Krishnamoorthy, K. and Lu, F. (2009). *A parametric bootstrap to the MANOVA under heteroscedasticity*. J. of Statist. Comput. and Simul., preprint.

Lee, A. F. S., and Gurland, J. (1975). *Size and power of tests for equality of means of two normal populations with unequal variances*. Journal of the American Statistical Association, 70, 933-941.

Luft BJ, Hafner R, Korzun AH. (1993). *Toxoplasmic encefalitis in patients with ad-*

quired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med, 329, 995-1000.

Martin DA, Towne JE, Kricorian G, Klekotka P, Gudjonsson JE, Krueger JG. (2013). *The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: preclinical and clinical findings*. J Invest Dermatol, 133(1), 17-26.

Masure H. (1994). *Toxoplasmosis*. En: Cecil Tratado de Medicina Interna. 19 ed. México: Interamericana, 2; 2310-14.

Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. (2009). *Interleukin-17 and type 17 helper T cells*. N Engl J Med., 361(9), 888-898.

Oréfice F, Bonfioli AA. (2000). *Uveíte clínica e cirúrgica*. En: Toxoplasmose. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 619-80.

Pagurova, V. I. (1968). *On a comparison of means of two normal samples*. Theory of probability and its applications, 13, 527-534.

Patil, V. H. (1965). *Approximation to the Behrens-Fisher distributions*. Biometrika, 52, 267-271.

Remington JS, McLead R, Desmonts G. (2001). *Toxoplasmosis*. En: Infectious diseases of the fetus and newborn. 5a ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 205-346.

Scheffé, H. (1943). *On solution of the Behrens-Fisher problem, based on the t -distribution*. Ann. Math. Statist. 14, 35-44.

Starnes T, Broxmeyer HE, Robertson MJ, Hromas R. (2002). *Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis*. J Immunol., 169(2), 642-646.

Sukhatme, P. V. (1938). *On Fisher and Behrens' test of significance for the difference in means of two normal samples*. Sankhya, 4, 39-48.

Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. (2000). *Toxoplasma gondii: from animals to humans*. J Parasitol, 30, 1217-58.

Wald, A. (1955). *Testing the difference between means of two normal populations with unknown standard deviations*. Selected papers in probability and statistics, 1, 669-695.

Wang, Y. Y. (1971). *Probabilities of type I error of the Welch test for the Behrens-Fisher Problem*. J. Amer. Statist. Assoc. 66, 605-608.

Welch, B. L. (1938). *The significance of the difference between two means when the population variances unequal*. Biometrika, 29, 350-362.

Welch, B. L. (1947). *The generalization of Student's problem when several different population variances are involved*. Biometrika, 34, 28-35.

Welch, B. L. (1951). *On the comparison of several mean values: An alternative approach*. Biometrika, 34, 28-35.

Yanagihara, H., and Yuan, K. H. (2005). *Three approximate solutions to the multi-*

variate Behrens-Fisher problem. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*, 34, 975-988.

Yao, Y. (1965). *An approximate degrees of freedom solution to the multivariate Behrens-Fisher problem*. *Biometrika*, 52, 139-147.