METODI STATISTICI PER LA BIOINGEGNERIA

Laboratorio 5

A.A. 2026-2027

Enrico Longato

Dal lab 4: L'ipotesi nulla è un'ipotesi

```
Primo test
H0 era che la media fosse 81.5 mg/dL.
Alfa era stato lasciato di default a 0.05.
Il test era a due code.
Il p-value è risultato 0.10282

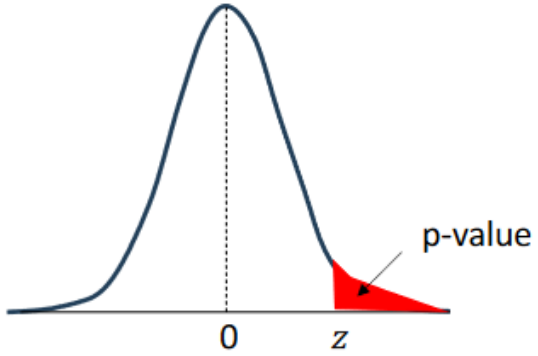
Secondo test
H0 era che la media fosse 82.5 mg/dL.
Alfa era stato lasciato di default a 0.05.
Il test era a due code.
Il p-value è risultato 0.4176
```

Se scioccamente pensassi di poter dimostrare l'ipotesi nulla solo perché il p-value viene "alto", non posso che scontrarmi con l'amara realtà dei fatti.

- **In questo esempio, l'ipotesi nulla era """""accettata""""" (= non confutata) sia per 81.5, sia per 82.5.**
- **Quindi, pensando scioccamente di poter dimostrare, a che valore avrei dimostrato, sempre scioccamente, che la media è uguale?**
- **Ecco, appunto.**

L'IPOTESI NULLA È UN'IPOTESI.

Dal lab 4: Ipotesi nulla per test a una coda



Un test a una coda (o unilaterale) si conduce esattamente come il corrispondente a due code (quello "standard"), **eccetto che**

- **È appropriato solo nel caso una delle due direzioni dell'eventuale disuguaglianza** che si può provare confutando l'ipotesi nulla **sia l'unica di interesse**, mentre il caso speculare sia irrilevante ai nostri fini (e, quindi, "poco male" se non riusciamo a rifiutare l'ipotesi nulla in quel caso)
- **La regione di decisione è su una sola coda della statistica** (tutta a destra o tutta a sinistra), cioè, in parole (molto) povere (da non ripetere all'esame di teoria), tutto lo 0.05 della significatività può essere sfruttato per confutare l'ipotesi nulla che ci interessa (invece che 0.025 a sinistra + 0.025 a destra come nel test a due code)

Ipotesi nulla per i test a una coda

Data l'ipotesi alternativa di interesse (diciamo $\mu > 23$), è **equivalente** esprimere l'ipotesi nulla per il test a una coda come $\mathrm{H}_0: \mu = 23$ oppure $H_0: \mu \leq 23$

- Personalmente, trovo più comodo pensare all'ipotesi nulla come quella con l'$=$ (così a un'ipotesi corrisponde una statistica)
- Altri preferiscono ritrovare l'esatta specularità tra ipotesi nulla e alternativa ($>$ contro $\leq$)

All'atto pratico, è questione di gusti!

Infatti, nella quasi totalità dei casi (e in tutti quelli comuni), vale che il p-value ottenuto usando la statistica costruita con l'$=$ è l'estremo superiore dei p-value ottenibili sulla famiglia di statistiche che bisognerebbe tecnicamente costruire seguendo il $\leq$ dell'ipotesi nulla ($\mu = 22, 21, 20.5, \ldots$); quindi, se già quello è minore di α, a maggior ragione lo sono tutti gli altri, da cui l'equivalenza tra le formulazioni.

Laboratorio 5: Contenuti e obiettivi

1. Esercitazione "alla lavagna"
   - Verifica dell'ipotesi di gaussianità
   - t-test a due campioni indipendenti
2. Esercizi da svolgere in autonomia (per superare la "paura del file bianco")
   - Test parametrici per campioni appaiati
   - Ripetizione del laboratorio 4 con t-test a un campione
3. Ripasso di teoria (**parte integrante del programma d'esame di teoria!**)
   - Completamento del ripasso sui test statistici in pratica (in giallo le novità)
   - Sintassi del t test a un campione (facile)
   - Ipotesi preliminari all'applicazione dei test

Verifica di ipotesi

I test statici sono tentativi di confutare un'ipotesi (l'ipotesi nulla) che, di conseguenza, corrisponde al "contrario" di quello che vorremmo dimostrare.

- In altre parole, se ci interessa dimostrare che due fenomeni siano diversi, procediamo ipotizzando che siano uguali e cercando di confutare questo fatto.
- La confutazione passa dal ragionamento "i dati che ho a disposizione sono così incompatibili con l'ipotesi nulla che essa non può che essere falsa e, dunque, con un certo livello di confidenza, posso dire che l'ipotesi alternativa (quella che volevo dimostrare) è vera".

Statistica del test

Matematicamente, i test statistici si basano sulla costruzione di una statistica, cioè di una variabile aleatoria "intelligentemente congegnata" che ha le seguenti tre caratteristiche

1. Ha senso solo se prendiamo per vera l'ipotesi nulla.
2. Si può formulare e se ne possono calcolare i valori a partire da informazioni facilmente reperibili sui campioni statistici a disposizione (es.: media, varianza, numerosità, …).
3. È matematicamente "comoda", cioè, sappiamo "tutto" della sua distribuzione, che è completamente definita date l'ipotesi nulla presa per vera al punto 1 e le poche informazioni di cui al punto 2.

- In pratica, conviene pensare alla **statistica del test** come un marchingegno matematico che noi **usiamo "così com'è"**, senza farci troppe domande.
- Sempre in pratica, la **forma matematica complicata** della statistica del test è principalmente "di comodo": all'aumentare della complessità del test, essa **perde progressivamente riscontro intuitivo** e diventa progressivamente sempre più difficile (fino a praticamente impossibile) interpretarla in termini di fenomeni reali.
- Più formalmente, vale che, in generale, **una statistica di test non è una buona statistica descrittiva** della popolazione (e le statistiche descrittive di una popolazione raramente sono buone statistiche di test).

Test statistici in pratica

1. Individuo la proprietà che voglio dimostrare e scelgo l'ipotesi nulla che, qualora dovesse essere rifiutata, mi darebbe la risposta che cerco.
2. Scelgo una regola di decisione, cioè un livello di significatività (lo posso scegliere "quando voglio", basta che sia **prima** di fare i calcoli).
3. Verifico alcune assunzioni di partenza sui dati (novità di oggi).
4. Assumo che l'ipotesi nulla sia vera (importante!).
5. Individuo la statistica corrispondente all'ipotesi nulla.
6. Calcolo i parametri necessari a partire dai dati a disposizione.
7. Calcolo il valore della statistica usando i numeri del punto sopra.
8. Confronto i p-value corrispondente con il livello di significatività e:
    1. Se il p-value è minore del livello di significatività, rifiuto l'ipotesi nulla.
    2. Se il p-value è maggiore del livello di significatività, mi chiudo in rispettoso silenzio, non potendo concludere niente sull'esperimento, (in questo caso, si dice che """"accetto"""" l'ipotesi nulla).

Test statistici in pratica (1 di 8)

- Individuo la proprietà che voglio dimostrare e scelgo l'ipotesi nulla che, qualora dovesse essere rifiutata, mi darebbe la risposta che cerco.

Voglio dimostrare che la media della popolazione da cui ho estratto il mio campione non è 100 mg/dL. Questa volta, assumo di non sapere la varianza.

- Mi chiedo: "Esiste un'ipotesi nulla che mi aiuterebbe, se negata, in tal senso?"
- Risposta: "Sì, posso assumere $H_0: \mu = 100$ mg/dL"

Test statistici in pratica (2 di 8)

- Scelgo una regola di decisione, cioè un livello di significatività (lo posso scegliere "quando voglio", basta che sia **prima** di fare i calcoli).

  Scelgo $\alpha = 0.05$

  Non c'è molto da dire: lo **scelgo "per protocollo"** sulla base di quanto severo voglio essere con il test:

  - Se mi basta un ragionevole dubbio che l'ipotesi nulla sia falsa, sceglierò α più grande
  - Se mi serve essere molto più sicuro, sceglierò α più piccolo.

  L'importante è sceglierlo **prima (!!!) di fare i calcoli**.

Test statistici in pratica (3a di 8)

- Verifico alcune assunzioni di partenza sui dati

La statistica del test si può costruire correttamente **solo** se sono valide contemporaneamente:

1. L'ipotesi nulla.
2. Alcune ipotesi su tutte le variabili aleatorie coinvolte (es. quelle di cui i dati sono realizzazione).

Sull'ipotesi nulla non si può sindacare.

Le altre ipotesi vanno verificate e bisogna essere consapevoli di quanto si stia deviando dal "caso ideale"; a volte può non essere un problema grave (v. stimatori robusti).

Test statistici in pratica (3b di 8)

- Verifico alcune assunzioni di partenza sui dati.

Partiamo da un presupposto fondamentale: siccome le ipotesi sono ipotesi, non si possono divinare o dedurre col ragionamento; vanno, semplicemente, sapute.

1. L'ipotesi nulla del test determina cosa il test può permetterci di dire e la forma della statistica (in un certo senso, l'ipotesi nulla "è" il test).
2. Le altre ipotesi determinano se il test che vorremmo applicare si può applicare (o ci guidano verso che test applicare altrimenti).

Cosa può succedere se le "altre ipotesi" (punto 2) non sono verificate

1. Se le ipotesi sono platealmente non verificate, "abbiamo sbagliato test", con le ovvie conseguenze del caso (votaccio all'esame e risultati privi di senso).
2. Se le ipotesi sono verificate "abbastanza bene, ma non del tutto" (difficile quantificare in che senso; ci vuole un po' di esperienza / ci vogliono tanti esercizi in preparazione all'esame), non succede niente di che; la maggior parte dei test sono robusti a piccole deviazioni (perderanno, al più, un po' di potenza statistica).

Test statistici in pratica (3c di 8)

- Verifico alcune assunzioni di partenza sui dati.

Nel caso del nostro esempio, dobbiamo verificare la gaussianità

- Se ci sembra plausibile => possiamo usare un test parametrico.
- Se non ci sembra plausibile => siamo costretti a un test non parametrico.

Workflow di verifica della gaussianità (uno dei possibili…)

1. Ispezione visiva dell'istogramma: se vedo multimodalità (più picchi) o asimmetrie gravi posso già escludere la gaussianità.
2. Test di gaussianità (in MATLAB c'è il test di Lilliefors che tenta di confutare l'ipotesi nulla che i dati provengano da una distribuzione normale di parametri incogniti): se rifiutiamo l'ipotesi nulla, possiamo escludere la gaussianità, altrimenti non possiamo dire nulla e "dobbiamo inventarci qualcos'altro". *NB: utile esercizio mentale di applicazione di un test "a scatola chiusa".*
3. QQ-plot: perché la gaussianità sia plausibile il grafico deve stare lungo una retta (per quanto ragionevolmente possibile).
4. Skewness e curtosi: per essere compatibili con una gaussiana, devono essere circa 0 e circa 3, rispettivamente.

Test statistici in pratica (4 di 8)

- Assumo che l'ipotesi nulla sia vera (importante!).

Devo interiorizzare e ricordami a ogni passaggio che l'ipotesi nulla è un'ipotesi e, dunque, è **data per vera da ora in avanti**.

Sembra controintuitivo, perché stiamo cercando di confutarla, ma dobbiamo darla per vera fino al momento in cui la confutiamo (*).

Altrimenti, la matematica perde di significato e, con essa, tutti i numeri che calcoliamo.

(*) Il ragionamento torna perché, tecnicamente, non confutiamo mai H_0 categoricamente; bensì solo con una certa "confidenza", corrispondente al livello di significatività α.

Test statistici in pratica (5 di 8)

- Individuo la statistica corrispondente all'ipotesi nulla.

All'atto pratico, non ci è mai richiesto di inventare la statistica del test.

- Semplicemente, cerchiamo in letteratura la statistica che meglio corrisponde all'ipotesi nulla e alla nostra situazione sperimentale.

Nel nostro caso, l'ipotesi nulla era $H_0: \mu = 100$ mg/dL e nulla sapevamo della varianza del campione.

- Dunque, usiamo un t test a un campione con varianza incognita.
- Cerchiamo la funzione MATLAB corrispondente: `ttest` chiamata con un vettore di dati e una costante.

Test statistici in pratica (6 e 7 di 8)

- Calcolo i parametri necessari a partire dai dati a disposizione.
- Calcolo il valore della statistica t usando i numeri del punto sopra.

MATLAB fa entrambe le cose per noi. In particolare, ci restituisce quanto segue

```
>> [h, p, ci, stats] = ttest(x, media_target)
```

h = 1 se e solo se l'ipotesi nulla è rifiutata con il livello di significatività specificato (qui non abbiamo scritto nulla, quindi 0.05)

Il p-value

L'intervallo di confidenza per la media di popolazione (non ci interessa, ai fini del test)

Una `struct` di campi

- `stats.tstat` = valore assunto dalla statistica del test
- `stats.df` = i gradi di libertà del test
- `stats.sd` = la deviazione standard stimata

Attenzione per il futuro (leggi "esame")

Alcune function non solo vogliono argomenti di ingresso diversi, ma restituiscono anche argomenti di uscita in numero e/o ordine diverso (quindi, magari, prima il p-value o 3 argomenti invece di 4).

Inutile imparare a memoria: consultare sempre l'help!

Test statistici in pratica (8 di 8)

- Confronto i p-value corrispondente con il livello di significatività e:
  1. Se il p-value è minore del livello di significatività, rifiuto l'ipotesi nulla.
  2. Se il p-value è maggiore del livello di significatività, mi chiudo in rispettoso silenzio, non potendo concludere niente sull'esperimento, (in questo caso, si dice che """"accetto"""" l'ipotesi nulla).

Si tratta di confrontare il valore di p restituito dalla function con $\alpha = 0.05$ che avevamo deciso all'inizio.

- Possiamo addirittura leggere l'esito del confronto nel parametro di uscita `h`.

Il calcolo non è un problema, l'interpretazione potrebbe esserlo (v. slide successiva)

Test statistici in pratica (per la vita)

L'ipotesi nulla è un'ipotesi

- **Se il p-value è alto, ovvero i dati sembrano concordare con l'ipotesi nulla, questo NON MI DICE ASSOLUTAMENTE NULLA rispetto al fatto che l'ipotesi nulla sia vera oppure no.**
- **Se non assumo (cioè do per assodato, cioè faccio finta!) che l'ipotesi nulla sia vera, non posso neanche costruire la statistica del test e, quindi, non posso calcolare il p-value (che si basa sulla distribuzione della statistica del test).**
  - Sarebbe come dire "Se questo (l'ipotesi nulla) è vero, allora è vero con una certa probabilità uguale al p-value".
  - Ma che senso ha? Se è vero, è vero e basta; cosa c'entra la probabilità?
  - Ecco, dunque, il cortocircuito logico che ci indica che l'ipotesi nulla non si può dimostrare, ma va presa per buona e, eventualmente, confutata.

CONTESTO DELL'ESERCITAZIONE E DATI

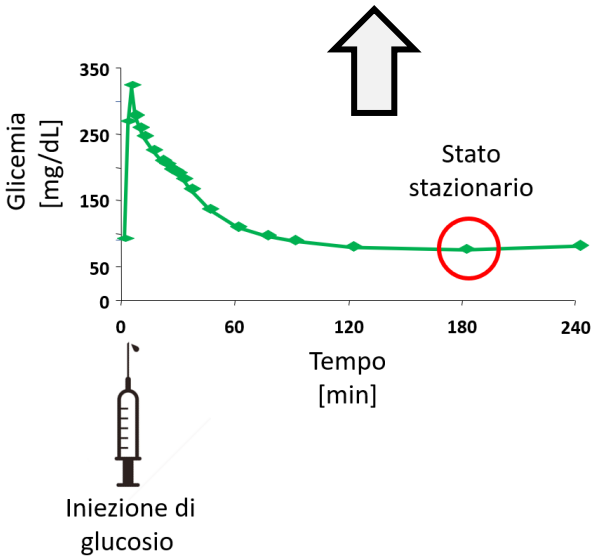
Due varianti di dataset, entrambe sull'Intravenous Glucose Tollerance Test (IVGTT)

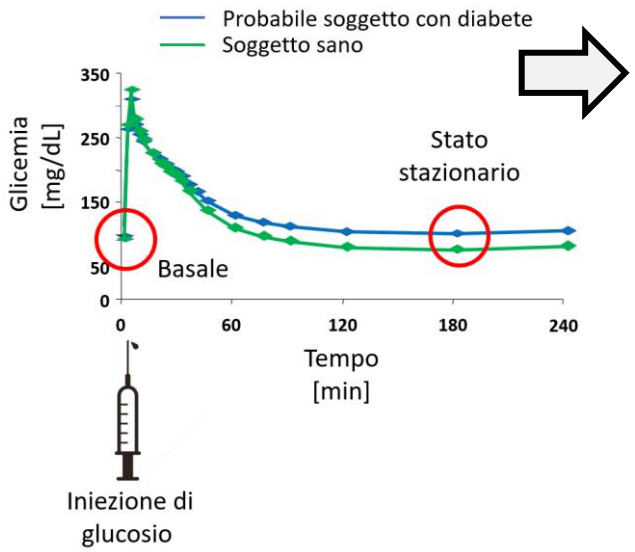
Esercizio 1: `IVGTT_SS.mat` (lab 4)

1) **Anziani** (`glucose_ss_elderly`)
2) **Giovani** (`glucose_ss_young`)

I dati sono contenuti nel file `IVGTT_SS.mat`

- `data`: matrice double 2D (un gruppo di pazienti per colonna).
- `labels`: cell array con le etichette delle colonne (= nomi delle variabili / gruppi).
- `units`: cell array con le unità di misura.





Esercizio 2: `IVGTT_subset.mat` (subset del lab 2)

1) **Età** (`age`)
2) **Sesso** (`sex`)
3) **Altezza** (`height`)
4) **Peso** (`weight`)
5) **BMI** (`bmi`)
6) **Superficie corporea** (`body_surface_area`)
7) **Glucosio basale e allo stato stazionario** (`glucose_basal` e `glucose_ss`)
8) **Insulina basale e allo stato stazionario** (`insulin_basal` e `insulin_ss`)
9) **Proteina C-reattiva basale e allo stato stazionario** (`c_reactive_protein_basal` e `c_reactive_protein_ss`)

I dati sono contenuti nel file `IVGTT_SS.mat`

- `data`: matrice double 2D (una variabile per colonna).
- `labels`: cell array con le etichette delle colonne (= nomi delle variabili).
- `units`: cell array con le unità di misura.

Prima di svolgere l'esercitazione (oppure al bisogno), utilizzare il comando help di MATLAB seguito dal nome delle seguenti function, utili allo svolgimento degli esercizi.

Comandi suggeriti dal docente

- `[h, p, kstat, critval] = lillietest(y)`
- `[h, p, ci, stats] = ttest2(y1, y2, 'Vartype', 'unequal')`
- `qqplot`
- **Per casa, per rifare il laboratorio 4:** `[h, p, ci, stats] = ttest(x, target_mean)`

Il resto è appositamente lasciato alla vostra abilità di consultare le slide di teoria e l'help di MATLAB.

ESERCIZIO 1 - PARTE 1: CARICAMENTO E PULIZIA DATI (già svolto nel laboratorio 4)

- Caricare il file `IVGTT_SS.mat`
- Effettuare un'analisi naive sull'intera tabella, individuando e contando
  - I valori mancanti (`NaN`), con la funzione `isnan`
  - I valori infiniti (`Inf`), con la funzione `isinf`
  - I valori negativi, con la consueta indicizzazione logica
- Sostituire eventuali valori infiniti e valori negativi con NaN (v. laboratorio 3 per il razionale)

ESERCIZIO 1 - PARTE 2: IPOTESI DI GAUSSIANITA' (svolto; perfezionamento del laboratorio 4)

- Verificare la plausibilità dell'ipotesi di gaussianità per entrambe le popolazioni
  - Calcolare: numero di dati mancanti, media e standard deviation, mediana e IQR, skewness e curtosi (già fatto)
  - Applicare il test di lilliefors per tentare di confutare l'ipotesi nulla di gaussianità.
    - Comando: `[h, p, kstat, critval] = lillietest(y)`
  - Plottare boxplot (già fatto), istogramma (già fatto) e `qqplot` nella stessa figura (`subplot`)

ESERCIZIO 1 - PARTE 3: t-TEST A DUE CAMPIONI INDIPENDENTI (svolto)

- Posto che l'ipotesi di gaussianità sia verificata, applicare il t-test nella variante di Welch per confrontare le medie delle due popolazioni (enunciare l'ipotesi nulla)
  - Comando: `[h, p, ci, stats] = ttest2(y1, y2, 'Vartype', 'unequal')`

ESERCIZIO 2 - PARTE 1: CARICAMENTO E PULIZIA DATI (svolto)

- Caricare il file `IVGTT_subset.mat`
- Eliminare dalla matrice `data` (e, conseguentemente, dai vettori `labels` e `units`) le colonne che non riguardano glucosio, insulina e proteina c-reattiva basali e allo stato stazionario
  - Devono rimanere 6 colonne, 6 etichette e 6 unità di misura corrispondenti a tre coppie di variabili misurate, per ciascun soggetto, una prima volta al basale e, una seconda volta, allo stato stazionario.

- Effettuare un'analisi naive sulla tabella così ottenuta, individuando e contando
  - I valori mancanti (`NaN`), con la funzione `isnan`
  - I valori infiniti (`Inf`), con la funzione `isinf`
  - I valori negativi, con la consueta indicizzazione logica
- Sostituire eventuali valori infiniti e valori negativi con NaN (v. laboratorio 3 per il razionale)

ESERCIZIO 2 - PARTE 2: IPOTESI DI GAUSSIANITA' (svolto solo in parte; il resto proposto)

- **Con l'obiettivo di capire se ci siano state variazioni tra il basale e lo stato stazionario** nelle tre coppie di variabili individuate sopra, verificare la plausibilità dell'ipotesi di gaussianità per le variabili di interesse
  - Capire quali sono effettivamente le variabili di interesse ai fini dei test (suggerimento: come recitano esattamente le "altre ipotesi" dei principali test per confronto di campioni appaiati?)
  - Effettuare le stesse operazioni dell'esercizio 1, parte 2.

ESERCIZIO 2 - PARTE 3: t-TEST A DUE CAMPIONI APPAIATI (proposto)

- Quando l'ipotesi di gaussianità è verificata, applicare il t-test per campioni appaiati.
- **Suggerimento**: ci sono diverse implementazioni equivalenti tramite la funzione ttest (**non** ttest2); consultate l'help di MATLAB per scegliere quella che vi piace di più.
- Se le ipotesi non sono verificate, potremmo applicare un test non parametrico, ma questo non è in programma di laboratorio per l'A.A. 2025/2026.

ESERCIZIO PROPOSTO NEL LABORATORIO SCORSO PER CUI ORA SIAMO PRONTI: ripetere gli esercizi del laboratorio 4 rilassando l'ipotesi di varianza nota.

- Suggerimento: la sintassi è identica a quella dello ztest, tranne che la function cambia nome e non serve specificare la standard deviation nota (giacché nota non è).

```
[h, p, ci, stats] = ztest(x, media_target, sd_nota)
```



```
[h, p, ci, stats] = ttest(x, media_target)
```

ESERCIZI IN PREPARAZIONE ALL'ESAME

- **Posto che ci sarà un'esercitazione apposita alla fine del corso, è molto semplice congegnare e fare tantissimi esercizi di preparazione all'esame sui test statistici: basta avere a disposizione dei dati.**
  - Già con i dati a disposizione dai laboratori precedenti si possono generare tantissimi esercizi.
- **Alcuni suggerimenti (ma sbizzarritevi!)**
  - Verifica delle ipotesi di gaussianità (o di simmetria o quello che serve).
  - Test a un solo campione (si può fare, verificando le ipotesi, per tutte le variabili di tutti i database che abbiamo usato e per molti che useremo).
  - Test a una coda o a due code.
  - Test per campioni appaiati oppure indipendenti (quando ha senso).
  - Prendere il database elsa (o un qualunque altro) e costruire due popolazioni sulla base di una variabile a piacere (es. BMI alto o basso).
  - Confrontare le popolazioni in questo modo.
  - Variazione del livello di significatività.
- **Per l'esame, è importante saper fare <u>molto bene</u> tutto quello che abbiamo visto**
  1. Caricamento, selezione e pulizia dati.
  2. Rappresentazione grafica e statistiche descrittive.
  3. Verifica di ipotesi preliminari (gaussianità, ecc.).
  4. Scelta del test corretto.
  5. Applicazione del test corretto e commento (preciso) del suo esito.