SUI RANGHI (E NON SOLO)

Spesso nelle analisi statistiche si parte dall'assunzione che la caratteristica oggetto di studio abbia nelle popolazioni una distribuzione normale. L'ipotesi di normalità, è un'assunzione estremamente importante ed è essenziale capire quando sia o meno lecito ritenerla valida.

A volte l'ipotesi di normalità poggia su un modello teorico come nel caso in cui si effettuino misurazioni ripetute di una stessa grandezza. Se escludiamo la presenza di errori sistematici, potremmo assumere $Y_i=\mu+\varepsilon_i$, dove la nostra osservazione Y_i sarà somma della vera misura della grandezza in esame μ e di un errore casuale ε_i descritto da una densità normale a media nulla.

Nel caso di un campione di numerosità elevata, potremmo facilmente verificare l'ipotesi di distribuzione normale, utilizzando i dati empirici per la costruzione di un istogramma. Anche in presenza di deviazioni dalla normalità, potremmo godere del sostegno offertoci dal TEOREMA CENTRALE DEL LIMITE, secondo il quale partendo da popolazioni con distribuzione diversa dalla normale, la media campionaria tenderà alla distribuzione normale asintoticamente. Nel caso in cui l'istogramma ci mostrasse, invece, distribuzioni molto asimmetriche, la media non sarebbe più il valore centrale nel cui intorno si concentrano le frequenze e quindi non sarebbe rappresentativa della popolazione.

L'assunzione di un modello ci permette descrive conoscenze a priori, che precedono lo svolgimento dell'esperimento; a queste si aggiungeranno quelle ricavate dai dati a esperimento concluso. Se non fossimo in grado di partire dal modello dovremo affidarci alla sola informazione empirica.

La situazione diventa più difficile nel caso in cui il campione sia di piccole dimensioni. In questo caso, a meno che non siamo supportati da un precedente studio che abbia verificato l'ipotesi di distribuzione normale per la caratteristica oggetto di studio, la costruzione di un istogramma non potrà esserci di aiuto, perché risulterebbe impreciso e poco affidabile. Non godremo inoltre della protezione del teorema centrale del limite.

In una condizione del genere, al fine di non ottenere risultati errati, saremo costretti ad allontanarci dalla STATISTICA PARAMETRICA fondata sull'assunzione di un modello (nel nostro caso normale) e capace di tradurre l'incertezza associata all'esperimento attraverso un numero *finito* di parametri (μ e σ nel caso normale). Ci sposteremo, quindi, verso la STATISTICA NON PARAMETRICA rinunciando a fare ipotesi in merito alla distribuzione della nostra variabile risposta nella popolazione che stiamo studiando. Muovendoci in questa direzione non saremo in grado di tradurre l'incertezza attraverso un numero finito di parametri, che diventeranno, così, un numero *infinito.*

Va sottolineato che il fatto di aver rinunciato all'assunzione di un modello non significa che non esista nella popolazione una precisa distribuzione, ma traduce esclusivamente la nostra incapacità nell'indagarla. Se infatti potessimo osservare tutti i soggetti della popolazione e costruire un istogramma, la forma di questa distribuzione sarebbe chiara.

Partiamo da una situazione sperimentale prettamente OSSERVAZIONALE in cui abbiamo due popolazioni: una costituita da soggetti sani e una costituita da soggetti affetti da una data patologia . La nostra

attenzione è focalizzata su un particolare gene, di cui misureremo il livello di espressione con lo scopo di verificare se questo possa essere identificato come marcatore di rischio per la patologia.

Il primo passo consiste nel raccogliere i campioni rappresentativi delle due popolazioni di interesse. Il prerequisito fondamentale del campionamento è dato dall'equiprobabilità, secondo la quale ogni soggetto della popolazione deve avere la stessa probabilità di entrare a far parte del campione. Il campionamento è un passaggio delicato e fondamentale e va affrontato con estrema attenzione. Partiamo dalla popolazione di soggetti malati: se lo studio è svolto in Italia, possiamo immaginare di disporre di una lista dei centri nazionali specializzati nella patologia, a partire dalla quale estrarremo casualmente alcuni centri, ai quali chiederemo a loro volta una lista dei soggetti in cura da cui estrarremo casualmente i soggetti che entreranno a far parte del campione. E' importante valutare, a seconda del tipo di gene e patologia, se sia il caso di reclutare soggetti già sottoposti a cura o reclutare soggetti alla prima diagnosi e mai sottoposti a terapia (naive). In questo secondo caso i pazienti dovranno essere reclutati in modo sequenziale a partire da un tempo t_0, man a man che si presenteranno al centro specializzato. Questa modalità è utile ad esempio nel caso in cui il gene in esame è in grado di mutare a seguito di trattamento farmaceutico, cosa che falserebbe la valutazione in merito al livello di espressione originario.

Una volta raccolto il campione di soggetti malati procederemo all'estrazione del DNA. Anche a tal proposito è utile domandarci se sia meglio portare tutti i campioni di DNA ad un unico centro per la valutazione del livello di espressione oppure procedere localmente. Nel primo caso per quanto riguarda macchinari, operatori, e metodologie, eviteremmo sicuramente il sommarsi di errori aggiuntivi e fattori di confondimento, ma, centralizzando l'estrazione, altereremo la rappresentatività del campione, prerequisito fondamentale per poter espandere il risultato all'intera popolazione. Il problema nasce dal fatto che, quando un singolo soggetto della popolazione vorrà indagare il livello di espressione del gene in questione, per valutare la presenza o meno di quella patologia, si rivolgerà al centro più vicino. Questo avrà una propria variabilità associata, che sarà diversa da quella del centro di fiducia in cui abbiamo svolto l'estrazione. Centralizzando, quindi, non ci confrontiamo con l'extra-variabilità associata ad ogni singolo centro, che però si presenterà quando espanderemo il risultato all'intera popolazione.

Ora che abbiamo disegnato l'esperimento per quanto riguarda i soggetti malati dobbiamo reclutare il campione di soggetti sani che fungeranno da controllo negativo (perché ci aspettiamo che il gene che vogliamo dimostrare essere marcatore della patologia non sia presente o poco espresso nella popolazione dei sani).

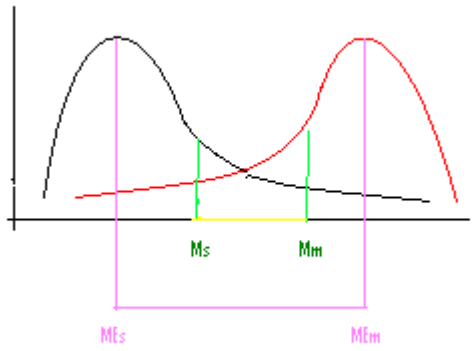
Il reclutamento dei soggetti sani ci pone davanti ad una situazione altrettanto delicata che riguarda la loro adesione alla sperimentazione: sarà certamente più facile convincerli a collaborare nel caso si possa escludere la patologia tramite una banale analisi, come per esempio nel caso del diabete quando basterà la misurazione della glicemia. La situazione, ovviamente, si complica nel caso in cui siano necessarie analisi più complicate; in questo caso ci aspettiamo che molti preferiscano non aderire. Per ovviare a questo problema potremmo rivolgerci agli stessi centri specializzati dai quali avevamo attinto i soggetti malati, ci faremo consegnare una lista di tutti i soggetti sani, che si sono recati nella struttura sospettando la patologia che in seguito è stata esclusa grazie ad accertamenti specifici.

A questo punto immaginiamo di avere due campioni rispettivamente rappresentativi delle due popolazioni di soggetti sani e malati e procediamo nell'analisi.

Sotto l'ipotesi di un modello normale la formulazione del sistema di ipotesi era centrata su μ , parametro fondamentale intorno al quale ci aspettavamo di trovare i valori relativi alla maggior parte della

popolazione. μ veniva poi stimato con la media campionaria. Nel caso in questione però, poiché abbiamo rinunciato all'assunzione di un modello, il parametro μ perde centralità poiché la media, sensibile ai valori estremi, tende a seguirli.

Vediamo un esempio:



Nel grafico la curva nera rappresenta la distribuzione dei soggetti sani, mentre la curva rossa rappresenta la distribuzione dei soggetti malati, come possiamo osservare entrambe sono asimmetriche. La media dei soggetti sani (Ms) tende a spostarsi a destra perché, sebbene la maggior parte della popolazione (picco) mostrerà valori bassi di espressione del gene, ci sarà una piccola parte di essa (coda) costituita da soggetti sani ma esprimenti il gene. Queste poche osservazioni con valori, però, molto lontani da quelli della maggior parte della popolazione, saranno avvertite dalla media che tenderà a seguirle, spostandosi. Nel caso della media dei soggetti malati (Mm),invece, avremo che la maggior parte della popolazione esprimerà alti livelli del gene, ma sarà sempre presente una piccola parte, che, al contrario, non esprimerà il gene anche in presenza di malattia. La presenza di queste poche osservazioni, in cui il gene non è espresso influenzeranno la media spostandola, questa volta a sinistra. In questa situazione la media perde centralità e di conseguenza non rappresenta l'effettiva distanza tra le due popolazioni. Più coerente con lo scopo della ricerca è la distanza tra le mediane calcolate rispettivamente sulle due popolazioni (MEs e MEm). Infatti la mediana si colloca al centro comunque siano fatte le distribuzioni, è robusta rispetto agli estremi e ci permette di valutare meglio le effettive distanze esistenti tra le due popolazioni.

Scegliamo allora di esprimere il sistema d'ipotesi come:

$$\begin{cases} H_0 & \delta_S = \delta_M \\ H_1 & \delta_S \neq \delta_M \end{cases}$$

Dove con δ_S e δ_M indichiamo rispettivamente la mediana nella popolazione dei sani e la mediana nella popolazione dei malati.

Il passo successivo sarà la costruzione della relativa statistica test. Possiamo immaginare di assumere come stimatori di δ_S e δ_M le corrispondenti mediane campionarie e, dal momento che stiamo trattando con un parametro di posizione, il loro confronto potrà essere basato sulla differenza. I problemi sorgono al momento di derivare la distribuzione della statistica test sotto H_0. Nella teoria classica del T-TEST la statistica test è rappresentata dalla differenza tra le medie campionarie, con distribuzione normale poiché

calcolata a partire da osservazioni normali. Nel nostro caso, se utilizzassimo la differenza tra mediane campionarie, la sua distribuzione dipenderebbe dalla densità delle singole osservazioni che non conosciamo e non saremmo in grado di procedere oltre. Ricordiamo infatti che le nostre osservazioni sono variabili aleatorie i.i.d. (indipendenti e identicamente distribuite) con $X_i \sim f$(x) dove f(x) è la densità che approssima la distribuzione del livello di espressione del gene nella popolazione, a noi sconosciuta. Per procedere nel confronto tra le due popolazioni abbiamo bisogno di costruire una statistica test la cui distribuzione sotto H_0 non dipenda dalla forma di *f.* Proviamo a partire, dall'unica informazione di cui disponiamo, cioè quella empirica. Avremo

$\Pr\{X_1 = x_1, \dots, X_n = x_n\} = \prod_{i=1}^{n} \Pr\{X_i = x_i\} = \prod_{i=1}^{n} f(x_i)$

La probabilità di osservare un campione caratterizzato dai valori (x_1,…, x_n) è uguale alla probabilità dell'intersezione dei singoli eventi che, sfruttando l'indipendenza, può essere scritta come la produttoria della probabilità relative alle singole osservazioni che essendo state estratte tutte dalla stessa popolazione, erediteranno da essa la distribuzione *f*, indipendente dall'indice. E' importante capire come i campioni osservabili non sono equiprobabili; la probabilità di osservare un certo campione nello spazio dei campioni possibili, dipende dalla forma di *f* e, come è logico attendersi, saranno più probabili quei campioni che contengono valori molto frequenti nella popolazione d'origine. Notiamo come, pur essendo nel continuo, per semplicità di notazione ci siamo riferiti ai singoli valori e non ad intervalli intorno ad essi.

Il metodo che andiamo a descrivere prevede che l'informazione empirica di cui disponiamo sia scissa in due parti, al fine di utilizzare quella la cui distribuzione è indipedente da *f*.

Da un lato definiamo come STATISTICA D'ORDINE l'insieme dei valori osservati ordinati in senso crescente (non decrescente). In simboli $(X_{(1)}, \dots, X_{(n)})$. E' importante notare che gli indici sono scritti tra parentesi per indicare l'ordinamento delle singole osservazioni: $X_{(1)}$rappresenta la più piccola delle osservazioni, mentre X_1 indica la prima osservazione estratta casualmente dalla popolazione di partenza. Attuando quest'ordinamento, perdiamo l'identità (label) del soggetto, legata all'ordine di estrazione. E' diverso dire che il primo soggetto estratto, "Marco", ha un livello di espressione del gene pari a 3 ($X_1 = 3$) dal dire che il più piccolo livello di espressione del gene osservato è 3 ($X_{(1)} = 3$).

Accanto alla statistica d'ordine definiamo la STATISTICA RANGO $(R_1, \dots, R_n)$ dove R_i = j $\leftrightarrow$ $X_i = X_{(j)}$. In altri termi il rango R_i dell'*i*-esimo soggetto estratto è la posizione da lui occupata nella statistica d'ordine.

Esiste una stretta analogia tra i ranghi e l'"ordine di arrivo" come lo intendiamo ad esempio nelle comperizioni sportive. Proviamo a costruire un esempio pratico che possa aiutarci a campire quanto detto utilizzando i risultati ottenuti dagli atleti durante la competizione finale dei 200 metri maschili ai giochi della XXX olimpiade di Londra 2012. Elenchiamo gli atleti immaginando di conoscere l'ordine in cui si sono iscritti alla competizione e accanto i risultati da essi ottenuti:

ORDINE ISCRIZIONE	NOMINATIVI PARTECIPANTI	TEMPI OTTENUTI
1	Richard Thompson	9"98
2	Asafa Powel	11"99
3	Churandy Martina	9"94
4	Usain Bolt	9"63
5	Tyson Gay	9"80
6	Yohan Blake	9"75
7	Justin Gatin	9"79
8	Ryan Bailey	9"88

A questo punto costruiamo la STATISTICA D'ORDINE ordinando in modo crescente i tempi ottenuti:

STATISTICA D'ORDINE	TEMPI OTTENUTI
$x_{(1)}$	9"63
$x_{(2)}$	9"75
$x_{(3)}$	9"79
$x_{(4)}$	9"80
$x_{(5)}$	9"88
$x_{(6)}$	9"94
$x_{(7)}$	9"98
$x_{(8)}$	11"99

Ora costruiamo la STATISTICA RANGO dove il rango R_i rappresenta la posizione occupata dall'*i*-esimo atleta nella statistica d'ordine o, in altri termini, il suo ordine di arrivo:

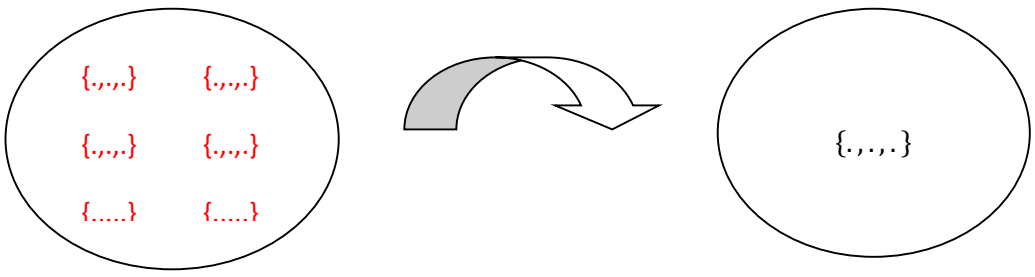
STATISTICA RANGO	GRADUTORIA FINALE
r_1	7
r_2	8
r_3	6
r_4	1
r_5	4
r_6	2
r_7	3
r_8	5

Notiamo come la statistica rango si liberi immediatamente dalle quantità osservate sulla loro scala naturale (tempi ottenuti), trasformando l'informazione di partenza in un numero naturale che va da 1 ad n (variabile discreta). Seguendo il nostro esempio ci limiteremo ad avere la classifica finale dei soggetti tralasciando la distanza effettiva tra le osservazioni che può essere valutata esclusivamente considerando i tempi ottenuti dai singoli. Considerando R_3=6 ed R_1=7 sappiamo che questi due atleti distano una posizione all'interno della classifica generale, ma non conosciamo più la distanza effettiva in termini di tempi ottenuti. Perdiamo l'informazione legata al valore continuo del tempo perché essendo la sua distribuzione dipendente da f non siamo in grado di utilizzarla.

Immaginiamo di aver fatto soltanto tre osservazioni e consideriamo i due insiemi a seguire. Il primo rappresenta lo spazio dei campioni, composto da vettori di tre elementi contenenti tutti i livelli osservabili di espressione del gene. Questo spazio può essere messo in corrispondenza con $(R^+)^3$ dove ogni campione corrisponde ad un punto con coordinate pari ai valori osservati.

L'altro insieme contiene i vettori osservabili per la statistica d'ordine e contiene tutti i campioni osservabili ma con il vincolo di avere valori ordinati in senso non decrescente.

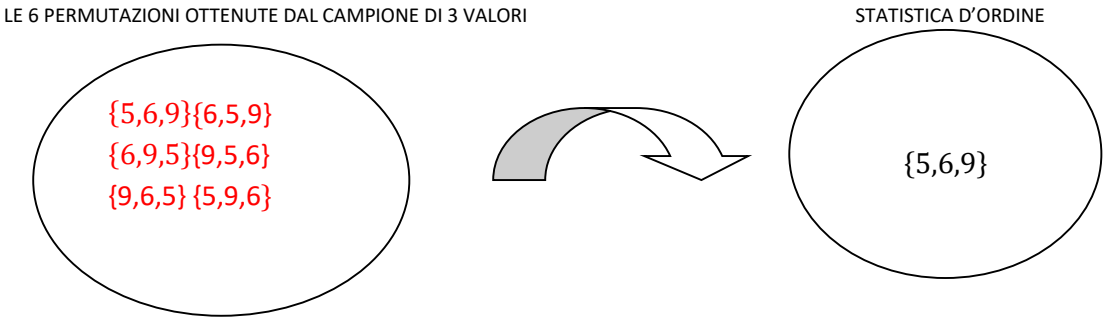
SPAZIO DEI CAMPIONI OSSERVABILI Ω_X STATISTICA D'ORDINE $\Omega_{X(i)}$



Ricordiamo che la probabilità di osservare un generico campione in Ω_X è Pr $\{(\mathrm{X}_1 = x_1) \cap \ldots \cap (\mathrm{X}_\mathrm{n} = x_n)\} = \prod_{i=1}^{n} f(x_i)$

Osserviamo che come ad una particolare statistica d'ordine corrispondano più campioni osservabili. Ad esempio la statistica d'ordine $\{5,6,9\}$ può derivare da tutti quei campioni costituiti da questi valori ma ordinati in modi diversi. Questi ultimi saranno tanti quante sono le permutazioni (n!) dei 3 valori, cioé 3!=6.

Di fatto la statistica d'ordine genera nello spazio dei campioni una partizione in sottoinsiemi che contengono quei campioni che condividono la stessa statistica d'ordine.



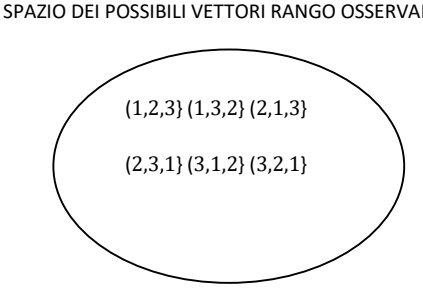
Una volta capito quali siano i campioni che conducono alla medesima statistica d'ordine, interessiamoci di capire con quale probabilità saranno osservati. La probabilità di ottenere una determinata statistica d'ordine sarà uguale alla probabilità dell'unione dei singoli campioni osservabili che conducono a quella statistica d'ordine e, quindi, uguale alla somma delle loro probabilità essendo eventi incompatibili. Dal momento che ciascuno dei 6 possibili campioni, in virtù dell'indipendenza delle osservazioni, condivide la stessa probabilità di essere osservato, $\prod_{i=1}^{n} f(x_i)$= *f(5)·f(6)·f(9)* , la probabilità di osservare quella specifica statistica d'ordine sarà data da 6 volte questo valore. In generale avremo

Pr $\{(\mathrm{X}_{(1)} = x_{(1)}) \cap \ldots \cap (\mathrm{X}_{(\mathrm{n})} = x_{(n)})\} = n! \prod_{i=1}^{n} f(x_i)$

Osserviamo come la distribuzione della statistica d'ordine rimanga legata a *f* : questo perché è strettamente influenzata da quanto sia frequente, nella popolazione, ogni singolo valore che la costituisce.

Ora passiamo a considerare la probabilità di osservare un certo vettore <u>RANGO</u>:

Partiamo dal capire il numero dei possibili vettori rango osservabili se n=3:



Ogni possibile elemento dello spazio dei campioni a dimensione *n* fissata corrisponde ad un vettore rango appartenente all' Ω_R ma ad ogni vettore rango osservabile corrisponderanno tutti quei campioni che, pur essendo costutiti da valori diversi, condivideranno lo stesso ordinamento. Ad esempio al vettore rango {1,2,3} corrisponderanno tutti i campioni che contengono valori già ordinati in senso non decrescente, indipendentemente da quali siano, ad esempio {7,9,12} ma anche {20,26,90}. Notiamo che il numero dei possibili vettori rango è pari al numero dei possibili ordinamenti cioè al numero delle possibili permutazioni dei primi n numeri naturali n!, nel nostro caso 6. Se le nostre osservazioni provengono dalla stessa popolazione ne condivideranno tutte la distribuzione. Ne segue che i diversi vettori rango saranno tra loro equiprobabili poiché non esisteranno motivi per ritenere a priori che una osservazione possa essere maggiore (o minore) di un'altra. Se immaginiamo di aver fatto due sole osservazioni che condividono la stessa distribuzione allora la probabilità che la prima sia minore della seconda o, in altri termini, di osservare il vettore rango (1,2) sarà ½. Avremo quindi

$Pr\{(R_1 = r_1) \cap \dots \cap (R_n = r_n)\} = \frac{1}{n!}$

Comprendiamo che, passando alla statistica rango, abbiamo compiuto un enorme semplificazione, poiché siamo passati da R^{+3} ad uno spazio costituito da soli sei elementi.

Questa perdita di informazione, rappresenta il prezzo che siamo costretti a pagare per non essere in grado di fare ipotesi su *f* . La probabilità di osservare un certo vettore di ranghi, infatti, si svincola totalmente dalla forma di *f*, per dipendere esclusivamente dalla numerosità *n* del campione, che invece, è un valore noto.

Notiamo che, mentre il vettore $(X_1,\dots,X_n)$ è costituito da osservazioni tra loro indipendenti, né gli elementi del vettore rango, né quelli della statistica d'ordine lo sono. Se immaginiamo di conoscere i primi n-1 ranghi l'ultimo è per forza determinato.

Vediamo concretamente come utilizzare i ranghi nel nostro caso. Siamo partiti da due popolazioni costituite rispettivamente da soggetti sani e malati e cerchiamo di valutare il livello di espressione di un dato gene che speriamo possa essere utilizzato come marcatore della patologia in questione senza alcuna ipotesi sulla sua distribuzione nelle due popolazioni. A partire da due campioni di osservazioni il nostro obiettivo è portare a verifica il sistema di ipotesi:

$$\begin{cases} H_0 & \delta_S = \delta_M \\ H_1 & \delta_S \neq \delta_M \end{cases}$$

A questo scopo dobbiamo costruire una statistica test basata sui ranghi, sensibile all'ipotesi alternativa e di cui conosciamo la distribuzione sotto l'ipotesi nulla. Unifichiamo i due campioni in un campione unico e calcoliamo la statistica d'ordine congiunta mantenendo l'informazione relativa al campione di provenienza. Definiamo poi come statistica test la somma dei ranghi corrispondenti ad uno dei due campioni, in genere quello di numerosità minore (WILCOXON RANK-SUM TEST).

Ipotizziamo di aver osservato i seguenti campioni **s**= {3, 7, 12, 10, 5}, **m**= {11, 26} rispettivamente di numerosità n_S=5 e n_M=2.

La statistica d'ordine congiunta sarà $\mathbf{x}_{()}$ ={ 3(s), 5(s), 7(s), 10(s), 11(m), 12(S), 26(m)}, da cui r_{1M}=5 e r_{2M}=7. Ne segue che il valore osservato della nostra statistica test sarà w=5+7=12.

Ricordiamo ancora che una buona statistica test deve rispondere a due requisiti fondamentali: deve avere una distribuzione nota sotto H_0 e deve essere sensibile ad H_1, cioè deve essere capace di individuare ed enfatizzare eventuali differenze esistenti di locazione tra $f_S(x)$ e $f_M(x)$.

Partiamo analizzando cosa osserveremmo se fosse vera l'ipotesi H_0 che prevede uguale distribuzione per le due popolazioni. In questa situazione siamo di fatto di fronte ad un'unica popolazione, quindi, i ranghi che osserveremmo relativamente ai soggetti malati potranno essere considerati un campione casuale dall'insieme totale dei ranghi osservabili, che nel nostro caso va da 1 a 7. Ci attendiamo pertanto che la somma dei ranghi tenda ad assumere valori centrali rispetto al range dei valori osservabili

Ora vediamo cosa succederebbe se fosse vera l'ipotesi H_1 che prevede una distribuzione del gene nei sani traslata rispetto a quella dei malati. Consideriamo il caso in cui i soggetti malati abbiano livelli di espressione del gene sistematicamente più alti, immaginando una netta separazione delle due popolazioni. Ci aspettiamo, quindi, che i ranghi dei soggetti malati occupino le ultime 2 posizioni e conducendo a valori elevati della statistica test. Nel caso in cui siano i livelli di espressione del gene sistematicamente più alti nei sani sarà ovviamente vero il contrario.

Resta da derivare la distribuzione della somma dei ranghi sotto H_0, cioè i valori che W potrà assumere al variare del campione nello spazio dei campioni e le corrispondenti probabilità. Si osservi come la nostra statistica test è una variabile aleatoria discreta anche se le osservazioni campionarie erano originariamente continue.

Osserviamo che nel nostro caso, poiché disponiamo in totale di 7 osservazioni, W potrà assumere valori compresi tra un minimo di 3 (1+2) ed un massimo 13 (6+7). Infatti i valori che si possono osservare per i ranghi del campione congiunto andranno da 1 a 7. Quali di questi ranghi corrisponderanno alle due osservazioni del gruppo M (R_{1M}, R_{2M})?

I ranghi osservabili per queste due osservazioni saranno:

1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7
	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7
		3,4	3,5	3,6	3,7
			4,5	4,6	4,7
				5,6	5,7
					6,7

*ognuna di queste coppie corrisponde in reltà a 2 coppie osservabili considerando che potremmo osservarle anche nell' ordine inverso. Quindi per avere il totale delle coppie possibili basterà raddoppiarle anche se questa operazione è di fatto inutile perché anche il totale che comparirà a denominatore risulterà raddoppiato.

Ciascuna delle coppie in tabella avrà una probabilità di essere osservata pari a $1/21=\binom{7}{2}=1/(7!/2!\ X\ 5!)$ dove $\binom{7}{2}$ sono le posizioni che le due osservazioni considerate potranno occupare nella statistica d'ordine congiunta (senza considerare l'ordine come chiarito nella nota *). A seguire i corrispondenti valori della statistica test W:

3	4	5	6	7	8
	5	6	7	8	9
		7	8	9	10
			9	10	11
				11	12
					13

Sottolineiamo che siamo partiti da coppie di ranghi, tra loro equiprobabili. Infatti la probabilità ad esempio della coppia (1,2) corrisponde alla somma delle probabilità dei vettori rango completi costruiti sul campione congiunto che hanno nelle prime due posizioni X_{1M}, X_{2M}. Questi 5! vettori rango, saranno tra loro equiprobabili poiché sotto l'ipotesi nulla tutte le osservazioni condividono la stessa distribuzione. Poiché lo stresso ragionamento può essere ripetuto per ogni coppia di ranghi osservabile, tutte saranno equiprobabili.

Da ciascuna coppia abbiamo poi ricavato le rispettive somme. Come possiamo osservare otteniamo il valore 3 o 13 a partire da una sola coppia rispettivamente, mentre otteniamo il valore 7 a partire da 3 coppie. E' evidente come i valori osservabili di W non sono equiprobabili, da qui la necessità di far riferimento all'omega del vettore (R_{1M}, R_{2M}) se vogliamo utilizzare la definizione classica di probabilità.

A questo punto è immediato derivare la distribuzione (discreta) della statistica test W

w	Probabilità
3	1/21
4	1/21
5	2/21
6	2/21
7	3/21
8	3/21
9	3/21
10	2/21
11	2/21
12	1/21
13	1/21

Non ci rimane che definire la regione di rifiuto del test assumendo α=0,05, regione che dovrà essere collocata sulle due code. Saremo sulla coda destra se i livelli di espressione del gene nei malati avranno valori elevati rispetto ai sani poiché in questo caso anche la somma dei ranghi nel campioni di pazienti malati sarà elevata. Saremo, invece, sulla coda sinistra se il livello di espressione del gene nei malati tenderà a valori bassi portando ad una somma dei ranghi bassa.

Come troviamo la regione di rifiuto sotto H_0? Nell'ipotesi di un modello normale la statistica test T era una variabile aleatoria continua. In quel, caso fissato α, cercavamo il percentile capace di tagliare aree pari ad $\alpha/2$ sotto le code della sua densità campionaria. Ora che ci troviamo nel discreto invece di integrare dovremo sommare le probabilità dei singoli valori partendo da quelli più estremi fino a raggiungere circa 0,025.

Nel nostro caso 1/21 = 0,048 > 0,025, quindi il valore w=13 si colloca già in regione di accettazione. La regione di rifiuto è, quindi, VUOTA. Il risultato ottenuto indica che in assenza di un modello e con poche osservazioni non possiamo arrivare a nessuna conclusione in merito alle due popolazioni. Il valore osservato di w=12 cade in regione di accettazione ma qualsiasi altro valore osservabile ci avrebbe condotto a non poter rifiutare H_0, lasciando aperta la possibiltà che entrambe le ipotesi siano vere. Ricordiamo infatti che un test non significativo non prova H_0 ma semplicemente che la nostra informazione sperimentale non è in grado di confutarla.

Il calcolo della distribuzione esatta di W al crescere della numersosità dei due campioni diventa complesso. E' allora cosigliabile standardizzare la statistica W. Questa nuova W' standardizzata per n→∞ converge alla densità normale.

Vediamo infine come si modifica il test nel caso di dati appaiati dove l'ipotesi nulla resta la stessa. Come nel caso parametrico passeremo ad analizzare le differenze tra coppie di ossevazioni. Adesso la statistica d'ordine verrà costruita sui valori assoluti di tali differenze ignorando cioè il segno che tuttavia manterremo come informazione. Definiamo poi come statistica test la somma dei ranghi corrispondenti a differenze di segno negativo (o positivo). In genere scegliamo il segno a cui corrisponde la numerosità minore (SIGN RANK-SUM TEST). Ipotizziamo di aver osservato le seguenti differenze **d**={-2,-1, 3, 7, 12, 10, 5}.

La statistica d'ordine congiunta sarà $\mathbf{x}_{()}$={ 1(-), 2(-), 3(+), 5(+), 7(+), 10(+), 12(+)}. Scegliamo di considerare i ranghi dei segni negativi poichè sono in numero minore. Quali ranghi potranno assumere le due differenze di segno negativo (R_{1-}, R_{2-})? La situazione è analoga al caso precedente ma solo apparentemente.

Se le differenze negative sono due, I ranghi osservabili saranno:

1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7
	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7
		3,4	3,5	3,6	3,7
			4,5	4,6	4,7
				5,6	5,7
					6,7

*ognuna di queste coppie ne contiene dentro 2 considerando che possiamo osservarle anche nell' ordine contrario, quindi per avere il totale delle coppie possibili basterà raddoppiarle.

Tuttavia, mentre nel caso precedente la numerosità dei 2 campioni era nota a priori, adesso il numero di differenze di segno negativo, N-, è aleatorio potendo assumere tutti i valori da 0 ad n. Sotto l'ipotesi nulla N- seguirà una distribuzione binomiale dove la probabilità di osservare una differenza negativa sarà ½. Ne segue che ciascuna delle coppie in tabella avrà una probabilità di essere osservata pari a $\Pr\{N-=2 \cap (R_{1-}=l, R_{2-}=k)\}=\Pr\{N-=2\}\, x\, \Pr\{R_{1-}=l, R_{2-}=k | N-=2\}$= =$\binom{7}{2}$ x 1/2^2 x 1/2^5 x $1/\binom{7}{2}$= (1/2)^7. Al variare del numero osservato di differenze negative avremo tabelle simili a quella precedente. Ovviamente la dimensione del vettore rango varierà conseguentemente. Il totale dei vettori rango osservabili sarà $\sum_{k=0}^{n}\binom{n}{k}=2^n$ dove n è il totale delle differenze ed essendo questi vettori equiprobabili ognuno di essi avrà probabilità 1/2^n.

Resta ancora un passaggio, quello dal vettore rango alla somme dei ranghi (la nostra statistica test). Per n=7 la cosa diventa complicata. Immaginiamo allora per semplicità di avere osservato solo tre differenze. I valori osservabili per N- andranno da 0 a 3. In corrispondenza di questi valori avremo i seguenti vettori rango osservabili

N-=0	Nessuna differenza negativa
N-=1	Un solo rango (R_{1-}) che potrà assumere i valori (1), (2), (3)
N-=2	Un vettore rango di dimensione 2 (R_{1-},R_{2-})che potrà assumere i valori (1,2) (1,3) (2,3)
N-=3	Un vettore rango di dimensione 3 (R_{1-},R_{2-},R_{3-}) che potrà assumere il solo valore (1,2,3)

Se passiamo a calcolare la somma dei ranghi osservabili otteniamo la distribuzione seguente

W	PROBABILITA'
0	1/8
1	1/8
2	1/8
3	2/8
4	1/8
5	1/8
6	1/8

A titolo di esempio proviamo a calcolare Pr{W=3}=Pr{$(N{-}{=}\,1\ \cap (R_{1-}=3)U(N{-}{=}\,2\ \cap (R_{1-}=1, R_{2-}=2)$ }=$\Pr\{N{-}{=}\,1\}\,x\,\Pr\{R_{1-}=3|\,N{-}{=}\,1\}+\Pr\{N{-}{=}\,2\}\,x\,\Pr\{R_{1-}=1, R_{2-}=2|\,N{-}{=}\,2\}$= $\binom{3}{2}$ x $1/2^1$ x $1/2^2$ x $1/\binom{3}{2}$ + $\binom{3}{2}$ x $1/2^2$ x $1/2^1$ x $1/\binom{3}{2}$ =2 $(1/2)^3$.

Fissato un valore di pari a 0.05 (da distribuire sulle due code) dobbiamo individuare la regione di rifiuto del test. Poiché 1/8>0.025, come nel caso precedente la regione di rifiuto sarà vuota e qualsiasi campione potremmo osservare non potremo rifiutare l'ipotesi nulla.

Per ora direi che può bastare. Buono studio