



2 ej.  
29.

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ALGUNAS TECNICAS PARA ANALISIS  
ESTADISTICO DE BIOENSAYOS**

**T E S I S**  
Que para obtener el título de  
**A C T U A R I A**  
p r e s e n t a

**MA. DE LOURDES MORONES ARMENDARIZ**

**México, D. F.**

**Mayo, 1986**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

	PAG.
INTRODUCCION.	1
CAPITULO I. LA NATURALEZA Y EL PROPÓSITO DE LOS BIOENSAYOS.	3
CAPITULO II. CONSIDERACIONES GENERALES RELATI- VAS AL DISEÑO DE BIOENSAYOS.	16
CAPITULO III. EL MODELO DE LÍNEAS PARALELAS.	27
CAPITULO IV. EL MODELO DE RAZÓN DE PENDIENTES.	52
CONCLUSIONES.	75
REFERENCIAS.	76

## INTRODUCCIÓN

Es un hecho histórico que el desarrollo de la Estadística, especialmente lo que se conoce como Métodos Estadísticos ha correspondido al avance de las ciencias en general. Particularmente, una gran cantidad de modelos y técnicas estadísticas han sido originadas en necesidades de la investigación biológica. En alguna forma, el ejemplo por excelencia habría de ser la teoría de Diseños Experimentales desarrollada por R.A.Fisher a raíz de su labor en la estación de investigación agrícola de Rothamsted (1935).

Las técnicas estadísticas para el análisis de Bioensayos son otro ejemplo de esta interrelación de la Estadística con otras disciplinas. Sin embargo, a diferencia de la llamada teoría de Diseños Experimentales que ha sido objeto de constantes revisiones y mejoras, parece que las técnicas de Bioensayo han permanecido sin actualizaciones importantes durante mucho tiempo. Esta situación aunada a una aparente pérdida de popularidad en favor de los llamados modelos de Análisis de Varianza, ha conducido a que pocos estadísticos en la actualidad utilicen estas técnicas y más aún, a que la terminología asociada al tratamiento estadístico de estos modelos sea poco conocida.

El objetivo de este trabajo es retomar algunos casos de Bioensayo y presentar con relativo detalle el tratamiento estadístico relacionado.

Para tal fin, en el primer capítulo, se introduce lo que se considera más frecuentemente como un Bioensayo, así como la terminología y estructura asociada. Por otra parte, en el segundo capítulo se particulariza a los ensayos de tipo Analítico y se presentan diversos considerandos y supuestos relativos al diseño de un Bioensayo de este tipo. Finalmente, en los dos últimos capítulos se describen con detalle dos tipos específicos de modelos: el de Líneas Paralelas, en el capítulo tres y el de Razón de Pendientes en el capítulo cuatro. En ambos casos el desarrollo es más o menos detallado para el proceso de estimación de la potencia y los límites de confianza correspondientes.

## CAPITULO I

★LA NATURALEZA Y EL PROPOSITO DE LOS BIOENSAYOS ★

Usualmente el Bioensayo se define como un procedimiento experimental para la determinación o estimación de la naturaleza, toxicidad, constitución o potencia de una sustancia o de un proceso, por medio de la reacción que se obtiene en la materia viviente. Más específicamente, se trata de un experimento por medio del cual se pretende determinar la potencia de una preparación desconocida o prueba en relación a una preparación estándar, cuando ambas preparaciones tienen el mismo efecto cualitativo en los sujetos prueba. Algunos autores llaman a esta particular categoría de bioensayos, Ensayos Analíticos. De cualquier forma, en estos casos típicamente se pretende obtener el mejor estimador de la potencia desconocida así como de los límites de confianza para su verdadero valor.

Es importante señalar que la aportación de la Estadística al Bioensayo consiste principalmente de tres aspectos:

- 1) Los principios estadísticos generales, básicos para el método de ensayo.
- 2) Los diseños experimentales que proporcionen resultados útiles y confiables.
- 3) El análisis de los datos experimentales, haciendo el mejor uso de toda la información proporcionada.

Finney (1971) afirma que la función más importante del estadístico consiste en proporcionar un diseño experimental adecuado, ya que de no ser así, el ensayo llega a considerarse imperfecto con un análisis ineficiente.

te de los resultados. El diseño experimental consiste en la determinación del número y magnitud de dosis de cada preparación a ser probada, el número de sujetos a ser usados en cada dosis, la forma de distribuir sujetos a las dosis, el orden en el cual los sujetos serán tratados y medidos, así como otras características relacionadas con el experimento. Asimismo, la estrecha conexión que existe entre el diseño del experimento y el análisis de los resultados, asegura que el problema del diseño óptimo no puede ser separado del análisis estadístico.

De esta forma la validez de un ensayo necesita ser verificada por medio de diversas pruebas de significancia sin las cuales el ensayo no tiene fundamento, a menos que el investigador lo garantice con información externa al experimento. Una vez establecida la validez correspondiente en el ensayo, deben ser estimados ciertos parámetros y especialmente es necesario calcular y asignar límites de confianza para el parámetro representativo de la potencia de la preparación prueba, relativa a una estándar.

Tradicionalmente, desde el punto de vista del análisis estadístico, el Bioensayo es considerado un conjunto de técnicas que se asocian, casi por completo, a la investigación biológica. Sin embargo, las técnicas estadísticas empleadas para el estudio de los ensayos biológicos pueden ser utilizadas para otro tipo de investigaciones, no necesariamente biológicas, siempre que los objetivos sean similares a los que se asocian a un bio-



ensayo y se cumplan las suposiciones fundamentales que requiere la investigación para utilizar como herramienta las correspondientes técnicas estadísticas.

Las suposiciones fundamentales para la realización de un ensayo, han sido proporcionadas por Jerne y Wood (1949):

- 1) Los conceptos fundamentales (marco teórico) deben, ser aplicados en forma correcta a la metodología del ensayo.
- 2) Los conceptos fundamentales de la teoría estadística se aplicarán correctamente al diseño y a los cálculos del ensayo.
- 3) Por último la aplicación de los principios estadísticos a los datos del experimento deben ser útiles y claros,

En el trabajo citado, Finney describe en términos generales el bioensayo, como una investigación donde típicamente se involucra un estímulo (una vitamina, una droga, un fungicida, etc.), aplicado a un sujeto (un animal, una pieza de tejido, una planta, un cultivo de bacterias, etc.). La intensidad del estímulo puede ser modificada de acuerdo con los objetivos del investigador, y siempre es registrada o medida en una escala que se considera apropiada (peso, volumen, concentración, etc.). A la aplicación del estímulo le sigue un cambio en alguna característica medible del sujeto. La magnitud de tal cambio se supone asociada a la dosis administrada al sujeto y el registro de esta magnitud constituye lo que se conoce como variable

de respuesta. En ocasiones se registran características tales como el peso de todo el sujeto o de algún órgano en particular, el contenido de azúcar en la sangre, la ocurrencia o no ocurrencia de la contracción de un cierto músculo, la recuperación de los síntomas de una deficiencia dietética, la muerte, etc.. Dentro de esta estructura, un ensayo posee dos componentes consideradas como principales; la primera es la variable de respuesta ( $Y$ ), cuya naturaleza cualitativa o cuantitativa típica como se comentará más adelante, al ensayo. La segunda es la variable dosis ( $Z$ ), que mide la cantidad o intensidad en que se administran los estímulos bajo consideración a los sujetos en el ensayo. Así, se puede emplear una "dosis"  $z_s$  para un estímulo estándar y una "dosis"  $z_p$  para el estímulo prueba; estas dosis se administran a los sujetos experimentales provocando respuestas  $y_s$  y  $y_p$ , que son designadas como la respuesta estándar y la respuesta de la prueba o desconocida, respectivamente.

Los ensayos, dependiendo del tipo de respuesta, pueden ser Cuantitativos o Cualitativos. Los primeros por sus características son considerados similares a los métodos de medición física o de análisis químico, cuya función es proporcionar valores numéricos de alguna propiedad del material ensayado, como podría ser el crecimiento u otro cambio en animales, plantas, tejidos, microorganismos. En este sentido, Finney afirma que la parte básica de un Bioensayo consiste en la estimación de las potencias relativas de los tratamientos. Para tal fin, en algunas ocasiones, se utilizan transformaciones en una escala

convenida, ya sea en la dosis, en la respuesta o en ambas para poder efectuar la comparación de las potencias de los tratamientos. Estas transformaciones pueden ser tales como el logaritmo, el seno, el coseno, etc.; obligando con ello a no limitarse únicamente a la comparación directa de las magnitudes obtenidas de los efectos en los diferentes tratamientos.

Usualmente, y como ya se ha insistido, los ensayos biológicos descritos son comparativos, esto es, la estimación de la potencia del estímulo bajo prueba se obtendrá por medio de su comparación con un estándar, que puede ser una norma conveniente que tenga un mínimo de estabilidad en un laboratorio particular, o bien un uso generalizado. Típicamente en la evaluación de las características del estándar se utilizan costosos procedimientos físicos o químicos a través de ensayos preliminares. De no tener estas características la preparación estándar, los ensayos biológicos alcanzan a ser solamente un resumen de comparaciones, generalmente de poco valor, entre preparaciones desconocidas, asegura Finney. En lo que respecta a la potencia, por definición se tiene que, para conocer la cantidad de la preparación desconocida equivalente en su efecto a una unidad de la preparación estándar, siendo expresadas ambas preparaciones en las mismas unidades, se calcula el cociente de las concentraciones, es decir, la potencia  $\rho$ , como sigue:

$$\rho = \frac{\text{Concentración de la preparación desconocida}}{\text{Concentración de la preparación estándar}}$$

El estímulo, o para usar el lenguaje común en Bioensayo, la preparación prueba, cuya potencia es desconocida, se ensaya para estimar la respuesta media a una dosis seleccionada de antemano. Esta dosis se iguala a una de la preparación estándar, que se sabe conduce a la misma respuesta media y así se obtiene un valor estimado de la potencia de la preparación prueba relativa a la preparación estándar, en un nivel dado de respuesta.

En el artículo antes referido, Finney propone que la mayoría de los métodos empleados en los Bioensayos consideraran una situación ideal en la cual la preparación estándar y la preparación prueba son idénticas en su principal componente activo. Específicamente hablando de preparaciones, esto significa que difieren únicamente en el material inactivo de dilución. En general ésta no es la situación de los ensayos, y por tal razón es necesario ponderar las conclusiones que de ellos se obtienen.

Comúnmente los ensayos son aplicados a campos de la ciencia, tales como en la identificación de grupos de sangre por medio de pruebas serológicas, la estimación de la potencia de vitaminas a través de sus efectos en el crecimiento de cultivos de microorganismos, la comparación de insecticidas por medio de pruebas tóxicas, etc.

Por otra parte, de acuerdo al tipo de información que emplean para la comparación de estímulos se obtiene una clasificación de los Bioensayos que es la siguiente:

- i) Ensayos Directos,
- ii) Ensayos Indirectos.

Un ensayo directo consiste en encontrar tanto la dosis de la preparación estándar como de la preparación prueba que produzcan la misma respuesta, cuando ésta puede ser medida directamente en cada individuo, esto es, la respuesta estará de antemano determinada y se registrarán las dosis que la produzcan. El cociente entre el promedio de estas dosis estima la potencia de la preparación prueba relativa a la preparación estándar y por definición, como se mencionó anteriormente, es la cantidad de la preparación estándar equivalente en efecto a una unidad de la preparación prueba. Esta técnica es practicada únicamente para ciertos estímulos y sujetos, dependiendo de la posibilidad de medir exactamente la dosis necesaria para producir la respuesta deseada en cada sujeto.

Algunas desventajas de los procedimientos para ensayos directos son los sesgos que se pueden presentar principalmente por el tiempo de retraso en la aplicación de la dosis a cada uno de los sujetos, así como en la eventual imposibilidad de administrar con precisión la dosis requerida a cada sujeto.

Por otra parte, en un ensayo indirecto, cada una de las dosis especificadas es administrada a varios sujetos y el conjunto de respuestas es analizado en forma global como resultado del uso de sujetos prueba a los cuales no es posible administrarles en forma individual una dosis específica, (es el caso de probar algún insecticida con moscas como sujetos prueba). En este caso se probará una serie de dosis a las cuales se les ajustará una curva, en la que se buscarán las dosis asociadas a una misma respuesta, tan

to en la preparación estándar como en la preparación prueba. En cuanto a la forma de análisis estadístico, los ensayos indirectos, hacen uso de las técnicas de regresión para describir la relación dosis-respuesta. Sin embargo, los cálculos de los Bioensayos de respuesta cualitativa son más laboriosos. En la estructura lógica, no obstante, los ensayos de respuesta cualitativa están más relacionados con los ensayos directos que con aquellos de respuesta cuantitativa. Un método para el análisis de Bioensayos con respuestas cuantitativas, consiste en hacer uso de la relación existente entre la dosis y la magnitud de la respuesta. Si la forma de esta relación es conocida para las dos preparaciones, la potencia puede ser estimada por procedimientos estadísticos específicos.

## EJEMPLO 1.

En forma muy general y simplificada, se presenta un ejemplo de ensayo biológico, tomado de Young y Romans (1948), que consiste en determinar la potencia relativa de diversos tipos de insulina aplicados a conejos, midiendo la cantidad de glucosa en la sangre.

Este experimento fué desarrollado a lo largo de un mes, empleando 12 conejos en el ensayo. Tomando una única muestra de sangre por análisis de glucosa, para cada conejo por cada día de prueba.

Las dosis de 0.60 y 1.20 unidades de la insulina de potencia desconocida fueron ensayadas contra las mismas dosis (0.50 y 1.20 unidades) de la preparación estándar. La preparación estándar fué proporcionada por el Comité de Insulina, Universidad de Toronto.

Los conejos empleados en la investigación fueron seleccionados con características tan homogéneas como fué posible, antes y durante el experimento. Antes de que los conejos recibieran la insulina (inyectada), dejaron de ser alimentados en un período de 16 a 18 horas. Las cantidades antes especificadas de insulina fueron entonces inyectadas en la vena marginal de la oreja del conejo. 50 minutos después de la inyección de insulina, fué tomado de una vena de la oreja, escasamente más de 1 ml. de sangre. Para determinar la cantidad de glucosa en la sangre en porcentaje. Los valores obtenidos fueron usados directamente en el cálculo de los resultados.

De este modo, por lo antes expuesto, es sencillo notar que éste es un ejemplo de Bioensayo indirecto con una respuesta de tipo cuantitativo. Donde el estímulo es la insulina aplicada a los conejos (sujetos prueba). La intensidad del estímulo (dosis) se aplicó en dos modalidades (0.60 y 1.2 unidades de cada preparación).

El registro de la cantidad de glucosa en la sangre como consecuencia de la aplicación del estímulo es lo que se llama respuesta, utilizándose la transformación logarítmica en la dosis.



## EJEMPLO 2.

Un ejemplo proporcionado por Finney (1971 , Cap,IV, pp.99) que aquí se presenta en forma aún más resumida, describe un Bioensayo indirecto de respuesta cuantitativa, para la determinación de la potencia del aceite de hígado de bacalao (preparación prueba) con respecto a la vitamina D3 (preparación estándar), por medio de la evaluación de su actividad antirraquítica en pollos (sujetos prueba).

El estímulo, en la preparación estándar, consistió en la administración de vitamina D3 proporcionada por la British Standards Institution. En el papel de la preparación prueba se administró aceite de hígado de bacalao (el estímulo en la preparación prueba) las intensidades o dosis de los estímulos fueron, para la estándar: 5.76, 9.6 y 16 unidades de vitamina por cada 100 grs. de alimento; mientras que para la preparación prueba se utilizaron: 32.4, 54, 90 y 150 mg. de aceite también por cada 100 grs. de alimento. Como sujetos experimentales se utilizaron pollos (27 para el estándar y 28 para la prueba).

La respuesta utilizada fué el porcentaje de restos de ceniza de los huesos de los pollos que se sacrificaron.

### EJEMPLO 3.

Otro ejemplo, hipotético, de Bioensayo indirecto con respuesta cuantitativa, se puede desarrollar en relación a la utilización de fungicidas en lotes de semillas (sujetos prueba), que son almacenados a lo largo de un año, para ser utilizados posteriormente en la siembra subsecuente.

Durante la estancia en el granero, las semillas son susceptibles de ser atacadas por plagas, particularmente hongos, y sufrir así daños que hagan disminuir su porcentaje de germinación (respuesta). Para contrarrestar esta situación, se utilizan fungicidas (estímulo) que se aplican a los lotes de semilla. Un problema de investigación consiste en la selección de los fungicidas más adecuados. Así si por ejemplo el fungicida A es de una marca comercial, muy conocida (estándar) es de amplia aceptación en el mercado, y el fungicida B (preparación prueba) es un producto experimental del que se tiene indicios en el sentido de que produce los mismos resultados a un menor costo, por usar una cantidad menor que la utilizada por el fungicida A, entonces resulta de interés comparar la potencia de estos dos estímulos.

El ensayo se puede realizar utilizando diferentes dosis de cada preparación (fungicida) aplicándolas a los lotes de semillas; almacenando éstos en condiciones homogéneas y después de cierto tiempo determinando el porcentaje de germinación de las semillas en esta nueva situación (variable de respuesta).

## CAPITULO II

★ CONSIDERACIONES GENERALES RELATIVAS AL DISEÑO DE BIOENSAYOS ★

Las técnicas estadísticas constituyen una valiosa herramienta para alcanzar la comprensión y conocimiento de diversos fenómenos en una gran variedad de campos de estudio; en particular, los que se asocian a los bioensayos.

Generalmente mediante el empleo de la Estadística, es posible exponer un panorama claro de la realidad y obtener una cuantificación de los hechos de interés, así como extraer la información relevante de resultados experimentales y utilizarla para acrecentar el conocimiento de la realidad y determinar la mejor forma de transformarla.

Este capítulo está destinado a la presentación de las ideas generales de las técnicas estadísticas que se pueden emplear en los bioensayos, especialmente los de tipo analítico.

Para el estudio de los resultados de una investigación que tiene las características de un bioensayo, se recurre eventualmente al uso de las técnicas estadísticas conocidas como de Análisis de Varianza, Hicks (1973). En general, se emplean modelos con dos criterios principales: uno que es la preparación bajo consideración, con dos niveles: estándar y prueba. El otro factor resulta ser la dosis con tantos niveles como diferentes dosis se ensayen en ambas preparaciones. Mediante el empleo de estas técnicas, es posible probar igualdad de efectos en las dosis, así como igualdad de efectos en las preparaciones cuando no hay interacción, bajo las suposiciones

de que los efectos de los tratamientos, así como los ambientales, son aditivos y que los errores experimentales se distribuyen normal e independientemente con una varianza común, Cochran y Cox (1980). En cualquier caso este enfoque, si bien permite estimar las diferencias en los efectos, no conduce a determinar lo que se ha llamado la potencia de la preparación prueba. De esta forma, si existe un interés específico en la potencia, es necesario recurrir a otras técnicas estadísticas para los ensayos biológicos que proporcionen estimaciones de la potencia de la preparación prueba relativa a la estándar y no, únicamente, diferencias de efectos.

Una forma de estimar la potencia consiste en usar las técnicas de Análisis de Regresión, Draper y Smith (1982), para describir la relación dosis-respuesta, considerando los resultados obtenidos de sujetos que hayan recibido diferentes dosis ( $z$ ) de un particular estímulo produciendo las respuestas correspondientes ( $\mu$ ). Así, si  $z$  y  $\mu$  representan respectivamente, la dosis y la respuesta tal como son medidas; otras variables como  $x$  y  $y$  pueden ser utilizadas para referirse a algunas transformaciones de las variables originales que puedan emplearse para el análisis estadístico. De esta forma, en una población dada de sujetos (o para repeticiones con el mismo sujeto, realizadas sin afectar la independencia de respuestas sucesivas), la respuesta promedio o respuesta esperada puede denotarse como:

$$E(\mu) = U \quad (2.1)$$

Ahora bien, en un bicensayo, la respuesta se supone cl

ramente relacionada de alguna forma con la dosis, específicamente, por lo menos para ensayos de uso común; esto implica una dependencia de la respuesta esperada en  $z$ . Esto es:

$$U = F(z) \quad (2,2)$$

donde  $F(z)$  representa una función de la dosis  $z$ .

La ecuación (2.2) es una función de regresión de  $\mu$  en  $z$ . En general no hay restricción alguna sobre  $F(z)$ , excepto que debe ser una función univaluada para toda dosis en el rango que interesa al experimentador.

Cuando se lleva a cabo un bioensayo, se suele incluir el siguiente supuesto que simplifica la interpretación de los resultados: si a la sustancia en la preparación estándar, responsable de producir la respuesta característica de los sujetos prueba se le llama el constituyente efectivo, entonces, la respuesta producida por la preparación desconocida se debe exclusivamente a la presencia del mismo constituyente efectivo, sin interferencia de ningún otro factor. Así, para el caso en que los estímulos sea realmente preparaciones, la preparación menos potente puede considerarse una dilución de la otra en un diluyente completamente inerte.

Este supuesto, en caso de ser válido, permite la selección más conveniente de la escala de medición de la variable de respuesta, de las condiciones experimentales, así como de la especie o variedad de los sujetos prueba utilizados en el estudio, ya que básicamente asegura que la estimación de la potencia es invariante ante di-

versas modalidades de estos factores.

En estas condiciones se tiene lo que se conoce como un ensayo de dilución analítica, donde las dos preparaciones contienen el mismo constituyente efectivo y todos los otros constituyentes no tienen efecto en  $U$ . Como consecuencia, la razón de potencia,  $\rho$ , debe ser independiente de  $U$ , esto es:

$$z_s / z_p = \rho \quad , \quad \text{para toda } U \quad (2.3)$$

Así, las dos funciones de regresión para la preparación estándar y la preparación prueba

$$U_s = F_s(z) \quad , \quad U_p = F_p(z) \quad (2.4)$$

pueden ser relacionadas de la siguiente forma:

$$F_p(z) = F_s(\rho z) \quad , \quad \text{para toda } z \quad (2.5)$$

donde  $\rho$  es constante y corresponde a la potencia de la preparación prueba relativa a la estándar. Esta condición, (2.3) es la que se conoce con el nombre de condición de similitud y constituye un prerrequisito de todos los ensayos de dilución analítica.

De esta forma, el problema fundamental del ensayo de dilución analítica, es el siguiente: dadas, una preparación estándar, cuyo contenido del constituyente efectivo es conocido o se define en unidades arbitrarias,

una función de regresión dosis-respuesta  $U=F(z)$  en condiciones específicas de ensayo, y una preparación prueba de la que se sabe que tiene el mismo constituyente efectivo, se pretende estimar la cantidad del constituyente efectivo que por unidad de dosis tiene la preparación prueba.

Este problema se resuelve haciendo uso del hecho de que para la preparación prueba la regresión dosis-respuesta debe ser  $U=F(\rho z)$ , donde  $\rho$  es la potencia relativa. Típicamente un estimador,  $R$ , de  $\rho$  puede ser obtenido a partir de estimaciones simultáneas de parámetros de la función de regresión, si la hipótesis de similitud es válida.

En este sentido, si los datos de una serie de ensayos no pueden ser adecuadamente descritos con la misma forma de la función de regresión para ambas preparaciones, entonces, o bien las condiciones experimentales habrán sido diferentes para las dos preparaciones o bien la suposición básica de similitud es falsa.

De esta forma un ensayo de dilución, es inválido o llega a serlo por el insuficiente cuidado que se tiene en el control del experimento o por una inherente falta de similitud de las preparaciones. Cuando las dos funciones de regresión son marcadamente diferentes, no pueden darse otras conclusiones. Sin embargo, puede suceder algunas veces que sobre un amplio rango de respuestas, las dos funciones tiendan a ser similares, así que la razón de las dosis igualmente efectivas varía poco en ese rango.



aún cuando en los extremos pueda distar de ser constante. En esos casos, muchos experimentos pueden mostrar poca evidencia en contra de la condición de similitud, o bien producir una razón de dosis igualmente efectivas cuyas variaciones son suficientemente pequeñas como para ser consideradas de poca importancia práctica, en tales circunstancias, un valor promedio de la razón puede resultar una expresión aproximada pero conveniente de la potencia relativa de las preparaciones en la producción de un particular tipo de respuesta. Debe tenerse presente que este resultado es solo una aproximación numérica y no tiene validez mas allá de las condiciones en que se efectúa la estimación. En un verdadero ensayo de dilución analítica, por el contrario, la estimación de potencia es de una naturaleza más general y debe ser independiente de la técnica de ensayo empleada, coincidiendo con estimaciones obtenidas por otros medios (quizás químicos o físicos) sin usar bioensayos (Gaddum 1950). La selección de sujetos, respuestas y condiciones experimentales sería irrelevante para la estimación obtenida, excepto en lo que concierne a la precisión de los estimadores. Finney (1971), asegura que el requerimiento de que el estimador de potencia sea independiente del método experimental usado, es de gran valor práctico, así como de importancia teórica. Debe notarse sin embargo, que el hecho de que dos preparaciones den respuestas que concuerden significativamente con la ecuación (2.5), no constituye una demostración de que tengan un constituyente efectivo común; esta condición es necesaria pero no suficiente.

En cuanto al diseño de un bioensayo. debe tenerse presente que en los ensayos generalmente existen otros factores distintos de la dosis que afectan la respuesta, estos factores

pueden ser conocidos o desconocidos. Entre los factores conocidos, algunos se pueden controlar para conveniencia del experimento e incluso pueden ser mantenidos constantes o casi constantes desde el principio hasta el final del ensayo.

Puede existir otro tipo de factores conocidos e importantes, que no se pueden controlar. Sin embargo, pueden ser registrados para cada sujeto prueba, de tal forma que la información sea utilizada posteriormente en el análisis de los datos.

Un tercer conjunto de factores conocidos se conforma con los factores cuya importancia relativa a la de la variable dosis se considere pequeña. Estos factores junto con los desconocidos no se pueden remover del ensayo pero mediante técnicas de aleatorización se puede propiciar que sus relativamente pequeños efectos no causen un sesgo en la variable de respuesta  $y$ .

La suposición de la existencia de una función que relaciona a la respuesta con la variable dosis, de modo que para cada valor de la respuesta esperada en el rango estudiado existe un único valor de la variable dosis, se puede considerar provisionalmente válida, de no encontrarse evidencia que se le oponga. En lo que respecta a la hipótesis de similitud entre la preparación estándar y la preparación desconocida puede ser probada estadísticamente para examinar la forma de la función que relaciona la respuesta con la dosis de las dos preparaciones, siempre y cuando el diseño experimental lo permita.

Los resultados de los procedimientos estadísticos de estimación dependen de los supuestos que se hagan sobre la naturaleza de la relación dosis-respuesta y de los cálculos específicos que se lleven a cabo.

Generalmente, estos supuestos no afectan la validez fundamental del ensayo, pero deben ser establecidos antes de realizar los cálculos correspondientes. Las suposiciones de este tipo que son usadas más frecuentemente se enuncian a continuación:

1. Tanto la dosis de la preparación estándar, como de la preparación desconocida, deben medirse con precisión suficiente para que los errores correspondientes puedan ser considerados despreciables en comparación con los errores experimentales y de muestreo en la respuesta  $y$ .
2. Existe al menos una función  $\mu$  para la respuesta  $\mu$ , y una función  $x$  para la dosis  $z$ , tal que: (a) para cada valor de  $\mu$  y de  $z$  dentro del rango del ensayo, le corresponde uno y solamente un valor real de la respuesta transformada  $y$  y de la dosis transformada  $x$  respectivamente; (b) la transformación de  $\mu$  a  $y$  es independiente de la transformación de  $z$  a  $x$ ; (c) los valores de  $y$  y de  $x$  satisfacen las suposiciones (3) a (7). Como un caso particular se incluyen, naturalmente, las transformaciones  $y = \mu$ ,  $x = z$ .
3. Las funciones deben ser conocidas y tales que  $y$  y  $x$  puedan ser calculadas.
4. La relación de  $y$ , (el valor esperado de  $y$ ) con  $x$ , se puede expresar por medio de una ecuación lineal:

$$y = a + bx$$

donde  $a$  y  $b$  son constantes que pueden ser evaluadas a partir de los datos del ensayo (Suposición de Li nealidad).

5. Para cualquier valor de  $x$  dentro del rango de dosis empleado, la distribución de frecuencias de  $y$  es normal (Suposición de Normalidad).
6. La varianza de  $y$  es constante (Suposición de Homocedasticidad).
7. La ocurrencia de un error no altera las probabilidades de ocurrencia de los otros errores. (Suposición de Independencia).
8. Si las suposiciones (1) a (7) son válidas, el proceso matemático aplicado a los datos produce valores únicos y exactos para el mejor estimador de potencia y sus límites de confianza.

Esto implica que los cálculos empleados deben ser apropiados a los datos del particular ensayo, y toda la información de que se dispone debe ser utilizada eficientemente, evitando errores de cálculo.

Por último, se tiene que algunos casos de transformaciones han sido objeto de particulares estudios en la literatura. Específicamente, los ensayos en los cuales una función de la respuesta está linealmente relacionada con el logaritmo de la dosis, conduce al análisis del paralelismo de las dos líneas de regresión, mientras que en los ensayos donde la relación lineal se da con la variable dosis original se efectúa la comparación de las dos líneas en el nivel dosis cero. Estos dos casos serán objeto de

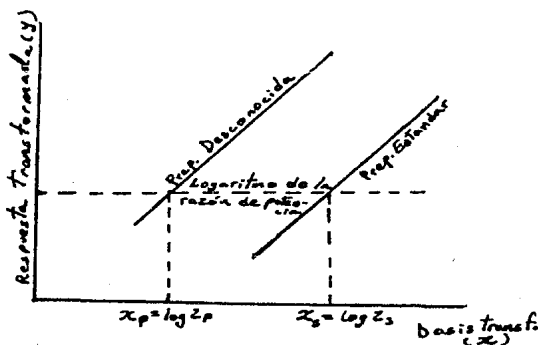
un tratamiento muy detallado en los siguientes capítulos.

En teoría no importa si la relación entre la variable de respuesta o una función de ésta y la dosis (o una función de ésta) es lineal; sin embargo, la suposición de linealidad resulta muy conveniente para evitar complicaciones técnicas en las pruebas necesarias para verificar la igualdad postulada por la hipótesis de similitud así como en el resto de los cálculos.

## CAPITULO III

### \* EL MODELO DE LINEAS PARALELAS \*

Los Bioensayos analíticos más sencillos, donde se utilizan dos o más dosis para cada preparación y la respuesta (o alguna transformación simple de la respuesta) es lineal con el logaritmo de la dosis ( $X = \log Z$ ), son usualmente llamados, por razones que se discutirán con amplitud más adelante. Ensayos de Líneas Paralelas.



ENSAYOS DE LÍNEAS PARALELAS. ENSAYOS EN LOS CUALES LA ABSCISA ESTA EN UNA ESCALA LOG.

En este tipo de ensayos, suelen ser incorporadas las siguientes suposiciones:

- 1) La existencia de diferencia entre las preparaciones.
- 2) Las pendientes de ambas ecuaciones son distintas de cero.
- 3) La existencia de paralelismo. (Las rectas son paralelas).

Como se verá posteriormente, estas tres suposiciones tienen una trascendencia distinta en el análisis de los resultados. Particularmente, las suposiciones (1) y (2) son básicas y de carácter conceptual, puesto que garantizan que los estímulos tienen ambos un efecto en la respuesta y que éste no es el mismo. Por su parte la suposición (3) es más bien una conveniencia técnica que simplifica, cuando es válida, el análisis y la interpretación de los resultados.

De cualquier forma, al desarrollar el Análisis Estadístico de un Bioensayo donde se pretende incorporar estos supuestos, es necesario plantear las siguientes pruebas de hipótesis:

- 1) La respuesta promedio de la estándar es distinta de la correspondiente preparación prueba, es decir, debe existir diferencia entre los modelos que describen los efectos de las preparaciones, estándar y prueba, de lo contrario se estaría analizando una misma preparación.
- 2) Para la pendiente, se prueba, para cada modelo, la hipótesis nula en que la pendiente de la curva respuesta-log (dosis) es cero. Ya que la pendiente de la línea representa la magnitud del cambio en la variable,
- 3) Desviaciones del paralelismo. Se toma como hipótesis nula que las pendientes verdaderas sean iguales, para asegurar el paralelismo entre las rectas.

No hay que perder de vista, sin embargo, que el principal objetivo de un bioensayo, como anteriormente se mencionó, es estimar la potencia  $\rho$ , a través de un estimador



donde  $R$ , basado en los datos del ensayo. De esta forma, al usar diferentes métodos de cálculo se obtendrán distintos estimadores de  $\rho$ , más o menos apropiados y el estadístico decidirá cuál es el mejor de ellos, el que sea eficiente y consistente en base a las suposiciones.

El estimador de potencia, por otra parte, no puede ser el único valor proporcionado por los datos del ensayo, resulta necesario dar límites de confianza correspondientes a algún nivel arbitrario de probabilidad. Entonces los límites de confianza ( $\rho_s$  y  $\rho_j$ , límite superior y límite inferior respectivamente), delimitan la región donde se tiene confianza, con un nivel fijo, determinado de antemano, en que el verdadero valor de potencia se encuentra.

Volviendo al problema de la determinación puntual de la potencia, es oportuno exhibir ahora la naturaleza técnica de la suposición de paralelismo.

En un sentido literal el paralelismo no es más que la manifestación de la hipótesis de similitud en el caso de modelos lineales en el logaritmo de la dosis. Esta afirmación puede corroborarse fácilmente como sigue:

Sea

$$F(x) = \alpha + \beta x, \text{ donde } x = \log_2 Z$$

de esta forma se tiene que:

$$U_s = \alpha_s + \beta_s X_s \quad (3,1)$$

$$U_p = \alpha_p + \beta_p X_p$$

son las ecuaciones que describen el efecto de la dosis en la respuesta esperada para la preparación estándar y la preparación prueba, respectivamente.

Para una respuesta promedio esperada  $U$ , las correspondientes dosis equivalentes, en la escala logarítmica, pueden denotarse por  $X_s$  y  $X_p$  de modo que:

$$U = \alpha_s + \beta_s X_s \quad (3,2)$$

$$U = \alpha_p + \beta_p X_p$$

despejando  $X_s$  y  $X_p$  de las ecuaciones en (3,2)

$$X_s = \frac{U - \alpha_s}{\beta_s} \quad (3,3)$$

$$X_p = \frac{U - \alpha_p}{\beta_p}$$

Note que las expresiones (3,3) tienen sentido solo si  $\beta_p$  y  $\beta_s$  son ambas distintas de cero (esto es, si la suposición (2) es correcta).

Recordando que la potencia  $p$  está definida como:

$$p = \frac{z_s}{z_p} \quad (3.4)$$

Se tiene que

$$\log p = \log \left( \frac{z_s}{z_p} \right) = \log z_s - \log z_p = x_s - x_p \quad (3.5)$$

Sustituyendo los valores de  $x_s, x_p$  (ecuación (3.3)) en la ecuación (3.5) se obtiene :

$$\begin{aligned} \log p &= \frac{U - \alpha_s}{\beta_s} - \frac{U - \alpha_p}{\beta_p} = \frac{U}{\beta_s} - \frac{U}{\beta_p} - \frac{\alpha_s}{\beta_s} + \frac{\alpha_p}{\beta_p} \\ &= U \left( \frac{1}{\beta_s} - \frac{1}{\beta_p} \right) + \left( \frac{\alpha_p}{\beta_p} - \frac{\alpha_s}{\beta_s} \right) \end{aligned} \quad (3.6)$$

De esta manera, la potencia relativa de la preparación prueba en el nivel de respuesta promedio  $U$  está dada por

$$p = p(U) = p_0 e^{\gamma U} \quad (3.7)$$

con

$$\begin{aligned} p_0 &= e^{\left( \frac{\alpha_p}{\beta_p} - \frac{\alpha_s}{\beta_s} \right)} \\ \gamma &= \left( \frac{1}{\beta_s} - \frac{1}{\beta_p} \right) \end{aligned}$$

Obviamente, esta es una función de  $U$  no constante que si bien tiene una forma general explícita, puede resultar poco conveniente. Por supuesto también, la descripción es mucho más simple en el caso de una constante, pero ello remite a la ya mencionada condición de similitud.

Es fácil de comprobar que, en este caso para que se cumpla la condición de similitud es necesario y suficien

te que  $\beta_p = \beta_s = \beta$  en la ecuación (3,6). Y es esto lo que da lugar al nombre de Ensayos de Líneas Paralelas.

Si se verifica la similitud, entonces

$$\gamma = 0 \quad \text{y} \quad \rho_0 = e^{\frac{1}{\beta}(\alpha_p - \alpha_s)}$$

de modo que

$$\rho(u) \equiv \rho_0 = e^{\frac{1}{\beta}(\alpha_p - \alpha_s)} \quad (3.8)$$

Este es el procedimiento con que se determina el valor de la potencia  $\rho$ , bajo el supuesto de que  $\beta$ ,  $\alpha_p$  y  $\alpha_s$  son valores conocidos. Cuando esta suposición no es cierta, y este usualmente es el caso,  $\rho$  se puede estimar por

$$R = e^{\frac{1}{\hat{\beta}}(\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s)} \quad (3.9)$$

donde  $\hat{\beta}$ ,  $\hat{\alpha}_s$ ,  $\hat{\alpha}_p$  son los estimadores de máxima verosimilitud de  $\beta$ ,  $\alpha_s$  y  $\alpha_p$  en las ecuaciones (3,1) basadas en observaciones normales, independientes y de varianza homogénea.

En general, la línea ajustada a las observaciones de la estándar no tendrá una pendiente idéntica a la de la línea ajustada de las observaciones de la preparación desconocida, pero si las desviaciones del paralelismo no son tan grandes que no se acepten como parte del error ex

perimental, la pendiente observada de la preparación estándar ( $\hat{\beta}_s$ ) se combinará con la pendiente observada de la preparación prueba ( $\hat{\beta}_p$ ) para dar el estimador del valor común presupuesto. Este hecho es una consecuencia del método de estimación empleado como se ilustra a continuación.

De las ecuaciones (3.1), tomando  $y_s = U_s$  y  $y_p = U_p$ , además de introducir  $\epsilon_s$ ,  $\epsilon_p$  como los errores (de la preparación estándar y de la preparación prueba, respectivamente) involucrados en las observaciones, se tiene que:

$$y_{si} = \alpha_s + \beta_s x_{si} + \epsilon_{si}, \quad \epsilon_{si} \sim N(0, \sigma_s^2)$$

con  $\epsilon_{si}$  independientes,  $i=1, \dots, n$

$$y_{pj} = \alpha_p + \beta_p x_{pj} + \epsilon_{pj}, \quad \epsilon_{pj} \sim N(0, \sigma_p^2)$$

con  $\epsilon_{pj}$  independientes,  $j=1, \dots, m$

y

$$\sigma_s^2 = \sigma_p^2, \quad \epsilon_{si} \text{ independientes de } \epsilon_{pj}, \quad \forall i, j.$$

bajo la hipótesis

$$H_0: \beta_s = \beta_p = \beta$$

Las funciones de densidad para  $y_s$  y  $y_p$ , tienen las siguientes expresiones:

$$f_s(y_s | \alpha_s, \beta, \sigma^2) = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta x_{si})^2}$$

$$f_p(y_p | \alpha_p, \beta, \sigma^2) = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{m}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta x_{pj})^2}$$

que producen la densidad conjunta,

$$L = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n+m}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta x_{pj})^2 \right]}$$

Para obtener los estimadores de máxima verosimilitud de los parámetros involucrados en L, de modo que basta con observar que

$$\ln L = -\frac{n+m}{2} \ln(2\pi\sigma^2) - \frac{1}{2\sigma^2} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta x_{pj})^2 \right]$$

de donde

$$\frac{d \ln L}{d \sigma^2} = -\frac{n+m}{2} \frac{2\pi}{2\pi\sigma^2} + \frac{1}{2\sigma^4} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta x_{pj})^2 \right]$$

así que

$$\frac{d \ln L}{d \sigma^2} = 0 \quad \Leftrightarrow$$

$$-\frac{n+m}{2} \frac{1}{\sigma^4} + \frac{1}{2\sigma^4} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta x_{pj})^2 \right] = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$-\frac{2\hat{\sigma}^2}{n+m} + 2\hat{\sigma}^4 \left[ \frac{1}{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha}_s - \hat{\beta} x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha}_p - \hat{\beta} x_{pj})^2} \right] = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$-\frac{1}{n+m} + \hat{\sigma}^2 \left[ \frac{1}{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha}_s - \hat{\beta} x_{si})^2} + \frac{1}{\sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha}_p - \hat{\beta} x_{pj})^2} \right] = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha}_s - \hat{\beta} x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha}_p - \hat{\beta} x_{pj})^2}{n + m} \quad (3.10)$$

Y

$$\frac{d\hat{\sigma}^2}{d\hat{\alpha}_s} = \frac{2}{2\hat{\sigma}^2} \sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha}_s - \hat{\beta} x_{si})$$

Así que

$$\frac{d\hat{\sigma}^2}{d\hat{\alpha}_s} = 0 \quad \Leftrightarrow \quad \sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha}_s - \hat{\beta} x_{si}) = 0$$

$$\Leftrightarrow \quad \hat{\alpha}_s = \bar{y}_s - \hat{\beta} \bar{x}_s \quad (3.11)$$

Por otra parte

$$\frac{d\hat{\sigma}^2}{d\hat{\alpha}_p} = \frac{2}{2\hat{\sigma}^2} \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha}_p - \hat{\beta} x_{pj})$$

de modo que

$$\frac{d\hat{\sigma}^2}{d\hat{\alpha}_p} = 0 \quad \Leftrightarrow \quad \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha}_p - \hat{\beta} x_{pj}) = 0$$

$$\Leftrightarrow \quad \hat{\alpha}_p = \bar{y}_p - \hat{\beta} \bar{x}_p \quad (3.12)$$

Finalmente

$$\frac{dQ}{d\beta} = \frac{2}{2\sigma^2} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{s_i} - \alpha_s - \beta x_{s_i})^2 (x_{s_i}) + \sum_{j=1}^m (y_{p_j} - \alpha_p - \beta x_{p_j}) (x_{p_j}) \right]$$

y en consecuencia,

$$\frac{dQ}{d\beta} = 0 \quad \Leftrightarrow$$

$$\sum_{i=1}^n y_{s_i} x_{s_i} - \hat{\alpha}_s \sum_{i=1}^n x_{s_i} - \hat{\beta} \sum_{i=1}^n x_{s_i}^2 + \sum_{j=1}^m y_{p_j} x_{p_j} - \hat{\alpha}_p \sum_{j=1}^m x_{p_j} - \hat{\beta} \sum_{j=1}^m x_{p_j}^2 = 0 \quad (3.13)$$

Sustituyendo de las ecuaciones (3.11) y (3.12) en la ecuación (3.13) se tiene:

$$\sum_{i=1}^n y_{s_i} x_{s_i} - (\bar{y}_s - \hat{\beta} \bar{x}_s) \sum_{i=1}^n x_{s_i} - \hat{\beta} \sum_{i=1}^n x_{s_i}^2 + \sum_{j=1}^m y_{p_j} x_{p_j} - (\bar{y}_p - \hat{\beta} \bar{x}_p) \sum_{j=1}^m x_{p_j} - \hat{\beta} \sum_{j=1}^m x_{p_j}^2 = 0$$

$\Rightarrow$

$$\sum_{i=1}^n y_{s_i} x_{s_i} - \bar{y}_s \sum_{i=1}^n x_{s_i} + n \hat{\beta} \bar{x}_s^2 - \hat{\beta} \sum_{i=1}^n x_{s_i}^2 + \sum_{j=1}^m y_{p_j} x_{p_j} - \bar{y}_p \sum_{j=1}^m x_{p_j} + m \hat{\beta} \bar{x}_p^2 - \hat{\beta} \sum_{j=1}^m x_{p_j}^2 = 0$$

de donde

$$\sum_{i=1}^n (y_{s_i} - \bar{y}_s)(x_{s_i} - \bar{x}_s) - \hat{\beta} \sum_{i=1}^n (x_{s_i} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (y_{p_j} - \bar{y}_p)(x_{p_j} - \bar{x}_p) - \hat{\beta} \sum_{j=1}^m (x_{p_j} - \bar{x}_p)^2 = 0$$



que finalmente conduce a la siguiente expresión;

$$\hat{\beta} = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \bar{y}_s) (x_{si} - \bar{x}_s) + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \bar{y}_p) (x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}$$

esto es,

$$\hat{\beta} = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \bar{y}_s) (x_{si} - \bar{x}_s)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} + \frac{\sum_{j=1}^m (y_{pj} - \bar{y}_p) (x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \quad (3.14)$$

$$= \frac{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s) y_{si}}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} + \frac{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p) y_{pj}}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \quad (3.15)$$

Multiplicando y dividiendo por  $\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2$  el primer miembro de la suma y por  $\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2$  el segundo, de la ecuación (3.14) se tiene:

$$\hat{\beta} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \bar{y}_s) (x_{si} - \bar{x}_s)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2} \right]}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} + \frac{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2 \left[ \frac{\sum_{j=1}^m (y_{pj} - \bar{y}_p) (x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \right]}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \quad (3.16)$$

Utilizando los resultados de la estimación por separado de  $\hat{\beta}_s$  y  $\hat{\beta}_p$  (Draper y Smith (1982)), se tiene que

$$\hat{\beta}_s = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \bar{y}_s)(x_{si} - \bar{x}_s)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2} \quad (3.17)$$

$$\hat{\beta}_p = \frac{\sum_{j=1}^m (y_{pj} - \bar{y}_p)(x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}$$

de modo que sustituyendo los valores de (3.17) en la ecuación (3.16)

$$\begin{aligned} \hat{\beta} &= \hat{\beta}_s \frac{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \\ &+ \hat{\beta}_p \frac{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \end{aligned} \quad (3.18)$$

Si además se define

$$w_s = \frac{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2}{\sigma^2}$$

o equivalentemente,

$$\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 = \sigma^2 w_s \quad (3.19)$$

y, análogamente

$$w_p = \frac{\sum_{j=1}^m (X_{pj} - \bar{X}_p)^2}{\sigma^2}$$

o equivalentemente,

$$\sum_{j=1}^m (X_{pj} - \bar{X}_p)^2 = \sigma^2 w_p \quad (3.20)$$

se obtiene sustituyendo las ecuaciones (3.19) y (3.20) en la ecuación (3.18)

$$\hat{\beta} = \frac{\sigma^2 w_s}{\sigma^2 w_s + \sigma^2 w_p} \hat{\beta}_s + \frac{\sigma^2 w_p}{\sigma^2 w_s + \sigma^2 w_p} \hat{\beta}_p$$

esto es,

$$\hat{\beta} = \frac{w_s \hat{\beta}_s + w_p \hat{\beta}_p}{w_s + w_p} \quad (3.21)$$

Es muy sencillo comprobar (Draper y Smith 1982) que  $w_p^{-1}$  coincide con la varianza de  $\hat{\beta}_p$  de la misma forma que

$w_s^{-1}$  coincide con la correspondiente de  $\hat{\beta}_s$ .

De esta forma,  $\hat{\beta}$  queda expresado, de acuerdo a la ecuación (3.21) por un promedio ponderado de los estimadores  $\hat{\beta}_s$  y  $\hat{\beta}_p$ . Como cada uno se calcula en base a un grupo distinto de observaciones y estos grupos son independientes se sigue que  $\hat{\beta}_s$  y  $\hat{\beta}_p$  son también independientes. De esta forma el cálculo de la varianza de  $\hat{\beta}$  es inmediato:

$$\begin{aligned}
 V(\hat{\beta}) &= V\left(\frac{w_s \hat{\beta}_s + w_p \hat{\beta}_p}{w_s + w_p}\right) \\
 &= \frac{V(w_s \hat{\beta}_s + w_p \hat{\beta}_p)}{(w_s + w_p)^2} \\
 &= \frac{w_s^2 V(\hat{\beta}_s) + w_p^2 V(\hat{\beta}_p)}{(w_s + w_p)^2} \\
 &= \frac{w_s^2 w_s^{-1} + w_p^2 w_p^{-1}}{(w_s + w_p)^2} \\
 &= \frac{1}{w_s + w_p} \quad (3.22)
 \end{aligned}$$

Retomando el problema original de estimación, se tiene de la ecuación (3.8) que

$$R = e^{\frac{1}{\sigma^2}} (\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s)$$

Como consecuencia, el estimador de máxima verosimilitud de  $\rho$  (sustituyendo  $\hat{\alpha}_p$  y  $\hat{\alpha}_s$ ) esta dado por:

$$\begin{aligned}
 R &= e^{\frac{1}{\hat{\beta}}[(\bar{y}_p - \hat{\beta}\bar{x}_p) - (\bar{y}_s - \hat{\beta}\bar{x}_s)]} \\
 &= e^{\frac{1}{\hat{\beta}}[\bar{y}_p - \hat{\beta}\bar{x}_p - \bar{y}_s + \hat{\beta}\bar{x}_s]} \\
 &= e^{\frac{1}{\hat{\beta}}[(\bar{y}_p - \bar{y}_s) + \hat{\beta}(\bar{x}_s - \bar{x}_p)]} \\
 &= e^{\frac{\bar{y}_p - \bar{y}_s}{\hat{\beta}} + (\bar{x}_s - \bar{x}_p)} \quad (3.23)
 \end{aligned}$$

Una vez obtenido el estimador puntual de la potencia según la ecuación (3.23) lo que resta por hacer es, construir el intervalo de confianza correspondiente para el verdadero valor de  $\rho$ .

De la ecuación (3.7)

$$\rho = e^{\frac{1}{\beta}(\alpha_p - \alpha_s)}$$

Entonces, si se desea encontrar  $R_1$  y  $R_2$  estadísticas tales que

$$P[R_1 < \rho < R_2] = 1 - \alpha$$

necesariamente se deberá tener que

$$P[\theta_1 < \ln \rho < \theta_2] = 1 - \alpha$$

con

$$\theta_i = \ln(R_i) \quad ; \quad R_i > 0$$

y donde

$$\ln \rho = \frac{1}{\beta} (\alpha_p - \alpha_s) \quad (3.24)$$

Sean ahora,

$$V = \hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s, \quad W = \hat{\beta} \quad (3.25)$$

y

$$V^* = \alpha_p - \alpha_s, \quad W^* = \beta \quad (3.26)$$

entonces

$$V \sim N(V^*, \sigma_V^2)$$

$$W \sim N(W^*, \sigma_W^2)$$

De (3.24) y (3.26) se sigue que el problema se reduce al de construir un intervalo de confianza para el cociente de medias de dos Variables Aleatorias con distribución Normal, procediendo de manera similar a la demostración del teorema de Fieller (Finney, 1971). Considere

$$\eta = \frac{V^*}{W^*} \quad (3.27)$$

y

$$U = V - \eta W \quad (3.28)$$

es claro que

$$U \sim N(0, \sigma_U^2)$$

puesto que

$$E(U) = V^* - \eta W^* = 0$$

Además,

$$\sigma_U^2 = \sigma_V^2 + \eta^2 \sigma_W^2 - 2\eta \sigma_{VW} \quad (3,29)$$

esto implica que

$$\frac{U}{\sigma_U} \sim N(0, 1)$$

De donde es posible encontrar constantes  $A_1$  y  $A_2$  tales que

$$P[A_1 < \frac{U}{\sigma_U} < A_2] = 1 - \alpha \quad (\alpha \in (0, 1))$$

como consecuencia:

$$P[A_1 \sigma_U < U < A_2 \sigma_U] = 1 - \alpha$$

y sustituyendo el valor de  $U$  de la ecuación (3,28)

$$P[A_1 \sigma_U < V - \eta W < A_2 \sigma_U] = 1 - \alpha$$

o equivalentemente,

$$P[A_1\sigma_V - V < -\eta W < A_2\sigma_V - V] = 1 - \alpha$$

esto es,

$$P[V - A_2\sigma_V < \eta W < V - A_1\sigma_V] = 1 - \alpha$$

$\Leftrightarrow$

$$P\left[\frac{V}{W} - A_2 \frac{\sigma_V}{W} < \eta < \frac{V}{W} - A_1 \frac{\sigma_V}{W}\right] = 1 - \alpha \quad (3.30)$$

En el caso de bioensayo que se trata,  $V = \hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s$ ,  
 $W = \hat{\beta}$ ,  $\eta = V^*/W^* = (\alpha_p - \alpha_s) / \beta$ .

de modo que

$$V / W = (\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s) / \hat{\beta}$$

coincide con el estimador de máxima verosimilitud de  $\eta = (\alpha_p - \alpha_s) / \beta$  debido a la propiedad de la invarianza de ese método de estimación. En otras palabras, para el caso de bioensayo,  $V/W = \hat{\eta}$ . Por lo tanto (3.30) se puede reescribir como sigue

$$P\left[\hat{\eta} - A_2 \frac{\sigma_V}{\hat{\beta}} < \eta < \hat{\eta} - A_1 \frac{\sigma_V}{\hat{\beta}}\right] = 1 - \alpha \quad (3.31)$$

De la expresión (3.31) se sigue que, si  $\sigma_V$  es conocida y en virtud de que  $A_1$  y  $A_2$  son constantes que se obtienen de tablas mientras que  $\hat{\eta}$  y  $\hat{\beta}$  son valores estimados a partir de los datos, el intervalo



$$\left[ \hat{\eta} - A_2 \frac{\sigma_{\sigma}}{\beta}, \hat{\eta} - A_1 \frac{\sigma_{\sigma}}{\beta} \right] \quad (3.32)$$

puede emplearse como un intervalo del  $(1-\alpha)$  por ciento de confianza para  $\eta$ . Desafortunadamente,  $\sigma_{\sigma}$  no es, en general conocida pero se puede obtener un intervalo aproximado si esta desviación estándar se sustituye por un estimador apropiado.

De esta forma, la última etapa consiste en obtener un estimador de  $\sigma_{\sigma}$  o equivalentemente de  $\sigma_{\sigma}^2$  si se utiliza un procedimiento con la propiedad de invarianza.

De la ecuación (3.29)

$$\sigma_{\sigma}^2 = \sigma_V^2 + \eta^2 \sigma_W^2 - 2\eta \sigma_{\sigma W}$$

donde

$$\sigma_V^2 = V(\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s),$$

$$\sigma_W^2 = V(\hat{\beta})$$

$$\sigma_{\sigma W} = \text{cov}(\hat{\beta}, (\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s))$$

Ahora bien, de las ecuaciones (3.19), (3.20) y (3.22) se tiene que

$$\sigma_W^2 = V(\hat{\beta})$$

$$= \frac{1}{w_s + w_p}$$

$$= \frac{\sigma^2}{\sum_{i=1}^s (x_{i2} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x}_p)^2} \quad (3.33)$$

Por otra parte,

$$\begin{aligned}\sigma_{\hat{Y}}^2 &= V(\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s) \\ &= V(\hat{\alpha}_p) + V(\hat{\alpha}_s) - 2 \operatorname{cov}(\hat{\alpha}_p, \hat{\alpha}_s) \quad (3.34)\end{aligned}$$

de manera que es indispensable encontrar las expresiones para estos términos. En el caso de  $V(\hat{\alpha}_p)$  se tiene que:

$$\begin{aligned}V(\hat{\alpha}_p) &= V(\bar{y}_p - \bar{x}_p \hat{\beta}) \\ &= V(\bar{y}_p) + V(\bar{x}_p \hat{\beta}) - 2 \operatorname{cov}(\bar{y}_p, \bar{x}_p \hat{\beta})\end{aligned}$$

En esta expresión es fácil verificar que

$$\operatorname{cov}(\bar{y}_p, \bar{x}_p \hat{\beta}) = \bar{x}_p \operatorname{cov}(\bar{y}_p, \hat{\beta}) = 0$$

ya que

$$\begin{aligned}\bar{y}_p &= \sum_{j=1}^m \frac{1}{m} y_{pj} \\ &= \sum_{j=1}^m c_{pj} y_{pj} \quad ; \quad c_{pj} = \frac{1}{m}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\hat{\beta} &= \frac{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s) y_{si} + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p) y_{pj}}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \\ &= \sum_{i=1}^n k_{si} y_{si} + \sum_{j=1}^m k_{pj} y_{pj} \quad ; \quad k_{si} = \frac{(x_{si} - \bar{x}_s)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \\ & \quad k_{pj} = \frac{(x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x}_s)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}\end{aligned}$$

son dos combinaciones lineales de las observaciones y por tanto:

$$\begin{aligned}
 \text{cov}(\bar{y}_p, \hat{\beta}) &= \text{cov}\left(\sum_{j=1}^m c_{pj} y_{pj}, \sum_{i=1}^n k_{2i} y_{2i} + \sum_{j=1}^m k_{pj} y_{pj}\right) \\
 &= \text{cov}\left(\sum_{i=1}^n k_{2i} y_{2i}, \sum_{j=1}^m c_{pj} y_{pj}\right) + \text{cov}\left(\sum_{j=1}^m c_{pj} y_{pj}, \sum_{j=1}^m k_{pj} y_{pj}\right) \\
 &= \sum_{j=1}^m c_{pj} \sum_{j=1}^m k_{pj} \text{cov}(y_{pj}, y_{pj}) \\
 &= \sigma^2 \sum_{j=1}^m c_{pj} k_{pj} \\
 &= \sigma^2 \sum_{j=1}^m \frac{1}{m} \frac{(x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{i=1}^n (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \\
 &= \frac{\sigma^2}{m} \frac{\sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)}{\sum_{i=1}^n (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2} \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

Esto implica que

$$\begin{aligned}
 V(\hat{\alpha}_p) &= V(\bar{y}_p) + V(\bar{x}_p \hat{\beta}) \\
 &= V\left(\frac{\sum_{j=1}^m y_{pj}}{m}\right) + \bar{x}_p^2 V(\hat{\beta}) \\
 &= \frac{1}{m^2} V\left(\sum_{j=1}^m y_{pj}\right) + \bar{x}_p^2 \left(\frac{1}{\omega_s + \omega_p}\right) \\
 &= \frac{\sigma^2}{m} + \bar{x}_p^2 \left(\frac{\sigma^2}{\sum_{i=1}^n (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}\right) \\
 &= \sigma^2 \left(\frac{1}{m} + \frac{\bar{x}_p^2}{\sum_{i=1}^n (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}\right) \quad (3, 35)
 \end{aligned}$$

En forma análoga

$$\begin{aligned}
 V(\hat{\alpha}_s) &= V(\bar{y}_s - \bar{x}_s \hat{\beta}) \\
 &= V(\bar{y}_s) + \bar{x}_s^2 V(\hat{\beta}) - 2 \bar{x}_s \text{cov}(\bar{y}_s, \hat{\beta}) \\
 &= \sigma^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}_s^2}{\sum_{i=1}^n (x_{2i} - \bar{x}_2)^2 + \sum_{j=1}^m (x_{pj} - \bar{x}_p)^2}\right) \quad (3, 36)
 \end{aligned}$$

Por otra parte,

$$\begin{aligned} \text{cov}(\hat{\alpha}_p, \hat{\alpha}_s) &= \text{cov}(\bar{Y}_p - \hat{\beta} \bar{X}_p, \bar{Y}_s - \hat{\beta} \bar{X}_s) \\ &= \text{cov}(\bar{Y}_p, \bar{Y}_s) - \bar{X}_s \text{cov}(\bar{Y}_p, \hat{\beta}) \\ &\quad - \bar{X}_p \text{cov}(\bar{Y}_s, \hat{\beta}) + \bar{X}_s \bar{X}_p \text{cov}(\hat{\beta}, \hat{\beta}) \end{aligned}$$

y como  $\bar{Y}_s$  es independiente de  $\bar{Y}_p$ , se sigue que

$$\begin{aligned} \text{cov}(\hat{\alpha}_p, \hat{\alpha}_s) &= \bar{X}_p \bar{X}_s V(\hat{\beta}) = \bar{X}_p \bar{X}_s \left( \frac{1}{\omega_s + \omega_p} \right) \\ &= \bar{X}_p \bar{X}_s \left( \frac{\sigma^2}{\sum_{i=1}^s (X_{si} - \bar{X}_s)^2 + \sum_{j=1}^p (X_{pj} - \bar{X}_p)^2} \right) \\ &= \bar{X}_p \bar{X}_s \sigma^2 \left( \frac{1}{\sum_{i=1}^s (X_{si} - \bar{X}_s)^2 + \sum_{j=1}^p (X_{pj} - \bar{X}_p)^2} \right) \quad (3.37) \end{aligned}$$

Sustituyendo los resultados de las ecuaciones (3.35) (3.36) y (3.37) en la ecuación (3.34) se obtiene:

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_V^2 &= \sigma^2 \left( \frac{1}{m} + \frac{\bar{X}_p^2}{d_s + d_p} \right) + \sigma^2 \left( \frac{1}{n} + \frac{\bar{X}_s^2}{d_s + d_p} \right) \\ &\quad - 2 \bar{X}_p \bar{X}_s \sigma^2 \left( \frac{1}{d_s + d_p} \right) \end{aligned}$$

donde  $d_s = \sum_{i=1}^s (X_{si} - \bar{X}_s)^2$  y  $d_p = \sum_{j=1}^p (X_{pj} - \bar{X}_p)^2$  por lo tanto:

$$\begin{aligned} \hat{\sigma}_V^2 &= \sigma^2 \left[ \frac{\bar{X}_p^2 + \bar{X}_s^2 - 2 \bar{X}_p \bar{X}_s}{d_s + d_p} + \frac{1}{m} + \frac{1}{n} \right] \\ &= \sigma^2 \left[ \frac{(\bar{X}_p - \bar{X}_s)^2}{d_s + d_p} + \frac{1}{m} + \frac{1}{n} \right] \quad (3.38) \end{aligned}$$

Lo que resta es encontrar el valor de  $\sigma_{VW}$   
 Esto es,

$$\begin{aligned}
 \sigma_{VW} &= \text{cov}(V, W) \\
 &= \text{cov}(\hat{\alpha}_p - \hat{\alpha}_s, \hat{\beta}) \\
 &= \text{cov}(\hat{\alpha}_p, \hat{\beta}) - \text{cov}(\hat{\alpha}_s, \hat{\beta}) \\
 &= \text{cov}(\bar{y}_p - \bar{x}_p \hat{\beta}, \hat{\beta}) - \text{cov}(\bar{y}_s - \bar{x}_s \hat{\beta}, \hat{\beta}) \\
 &= \text{cov}(\bar{y}_p, \hat{\beta}) - \bar{x}_p \text{cov}(\hat{\beta}, \hat{\beta}) - \text{cov}(\bar{y}_s, \hat{\beta}) \\
 &\quad + \bar{x}_s \text{cov}(\hat{\beta}, \hat{\beta}) \\
 &= \bar{x}_s \text{cov}(\hat{\beta}, \hat{\beta}) - \bar{x}_p \text{cov}(\hat{\beta}, \hat{\beta}) \\
 &= \bar{x}_s V(\hat{\beta}) - \bar{x}_p V(\hat{\beta}) \\
 &= \bar{x}_s \left( \frac{1}{w_1 + w_2} \right) - \bar{x}_p \left( \frac{1}{w_1 + w_2} \right) \\
 &= (\bar{x}_s - \bar{x}_p) \left( \frac{1}{w_1 + w_2} \right) \\
 &= \sigma^2 \left[ \frac{\bar{x}_s - \bar{x}_p}{d_s + d_p} \right] \tag{3.39}
 \end{aligned}$$

Finalmente, sustituyendo en la ecuación (3.29) los resultados de las ecuaciones (3.33), (3.38), (3.39) y utilizando que  $d_s = \sum_{i=1}^m (x_{si} - \bar{x}_s)^2$ ,  $d_p = \sum_{j=1}^n (x_{pj} - \bar{x}_p)^2$  se obtiene la siguiente expresión:

$$\begin{aligned}
 \sigma_V^2 &= \sigma^2 \left[ \frac{\bar{x}_p^2 + \bar{x}_s^2 - 2\bar{x}_p\bar{x}_s}{d_s + d_p} + \frac{1}{m} + \frac{1}{n} \right] \\
 &\quad + \eta^2 \sigma^2 \left[ \frac{1}{d_s + d_p} \right] - 2\eta \sigma^2 \left[ \frac{\bar{x}_s - \bar{x}_p}{d_s + d_p} \right] \\
 &= \sigma^2 M + \eta^2 \sigma^2 N - 2\eta \sigma^2 Q \tag{3.40}
 \end{aligned}$$

donde

$$M = \frac{\bar{X}_p^2 + \bar{X}_s^2 - 2\bar{X}_p\bar{X}_s}{d_s + d_p} + \frac{1}{n} + \frac{1}{m}$$

$$N = \frac{1}{d_s + d_p}$$

$$Q = \frac{\bar{X}_s - \bar{X}_p}{d_s + d_p}$$

de esta expresión para  $\sigma_v^2$  es evidente que su valor es desconocido en tanto que lo sean los de  $\sigma^2$  y  $\eta$ . Sin embargo contando con los estimadores  $\hat{\sigma}^2$  y  $\hat{\eta}$  por máxima verosimilitud, se puede entonces, estimar por el mismo método a  $\hat{\sigma}_v^2$

de modo que

$$\hat{\sigma}_v^2 = M \hat{\sigma}^2 + N \hat{\eta}^2 \hat{\sigma}^2 - 2Q \hat{\eta} \hat{\sigma}^2$$

puede emplearse para producir el intervalo de confianza aproximado,

$$\left[ \hat{\eta} - A_2 \frac{\hat{\sigma}_v}{\beta}, \hat{\eta} - A_1 \frac{\hat{\sigma}_v}{\beta} \right]$$

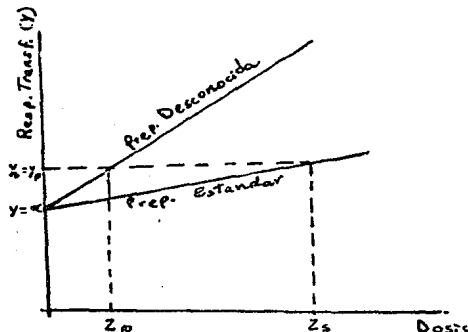
## CAPITULO IV

### \* EL MODELO DE RAZON DE PENDIENTES \*

El tipo de ensayos discutido en el capítulo anterior utiliza una relación de regresión dosis-respuesta, que hace uso de la transformación logaritmo en la dosis para conocer la cantidad de la preparación desconocida equivalente por su efecto a una unidad de la preparación estándar, siendo expresadas ambas preparaciones en las mismas unidades. Una alternativa relativamente común a este tipo de ensayo son los llamados Ensayos de Razón de Pendientes, donde se utilizan, al igual que en el tipo de ensayos de líneas paralelas, dos o más dosis para cada preparación, pero donde a la dosis se le aplica una transformación de la forma

$$X = Z^{\lambda} \quad (\lambda \neq 0, \text{ conocida})$$

Es importante notar que esta transformación origina en realidad, una familia de modelos parametrizada por  $\lambda$  que en particular contiene el caso lineal en la dosis ( $\lambda \equiv 1$ )



ENSAYOS DE RAZON DE PENDIENTES. ENSAYOS  
 DOSIS EN LOS CUALES LA ABSCISA TIENE UNA  
 TRANSFORMACION DE LA FORMA  $x = z^{\lambda}$ ,  $\lambda = 1$



Similarmente a los ensayos de líneas paralelas, este tipo de ensayos incorporan las siguientes suposiciones:

- 1) La existencia de diferencia entre las preparaciones.
- 2) Las pendientes de ambas ecuaciones son distintas de cero.
- 3) La existencia de una ordenada al origen común.

En forma también análoga al modelo de líneas paralelas, las suposiciones (1) y (2) son fundamentales y de carácter conceptual. Garantizan que los estímulos tienen un efecto distinto en la respuesta.

En lo que respecta a la suposición (3), ésta es formulada como una conveniencia técnica que simplifica cuando es válida, el análisis así como la interpretación de los resultados.

Como ya se ha indicado, si se pretende incorporar estos supuestos al desarrollo del Análisis Estadístico de un Bioensayo, es necesario plantear las siguientes pruebas de hipótesis:

- 1) La respuesta promedio de la estándar es distinta de la correspondiente a la preparación prueba, es decir, existe diferencia entre los modelos que describen los efectos de las preparaciones, estándar y prueba. De lo contrario se estaría analizando una misma preparación.

- 2) Para la pendiente, se prueba, para cada modelo, la hipótesis nula en que la pendiente de la recta que relaciona la respuesta con  $X = Z^1$  es cero. La pendiente de la línea representa la magnitud del cambio en la variable.
- 3) Desviaciones de la ordenada al origen común. En este caso se toma como hipótesis nula la afirmación de que la respuesta a la dosis cero es la misma para ambas preparaciones, de forma que se pueda asegurar que la ordenada al origen es común para las dos rectas.

En cualquier forma, no hay que perder de vista que el principal objetivo de un bioensayo es estimar la potencia  $\rho$ , por medio de un estimador  $R$ , basado en los datos del ensayo. Este estimador de la potencia no debe ser el único valor proporcionado por los datos del ensayo, resulta necesario entonces, dar límites de confianza correspondientes a algún nivel fijo y arbitrario de probabilidad determinado de antemano, que delimiten la región donde se tiene confianza en que el verdadero valor de potencia se encuentra.

Volviendo al problema de la determinación puntual de la potencia, se exhibirá ahora la naturaleza técnica de la suposición (3), que no es más que la manifestación de la hipótesis de similitud para este tipo de modelos. Esta afirmación puede confiarse fácilmente como sigue:

Los ensayos llamados de Razón de Pendientes se desarrollan bajo la suposición de que la relación entre la respuesta y la dosis es, para ambas preparaciones, des-

crita por una ecuación de la forma:

$$F(x) = \alpha + \beta X \quad (4.1)$$

donde  $F(X)$  representa la respuesta promedio, y  $X = Z^1$ , ( $1 \neq 0$ , conocida). En cualquier caso se obtiene un modelo para la preparación estándar, así como para la preparación prueba, donde las respuestas esperadas  $U = F(x)$  son de la forma

$$\begin{aligned} U_s &= \alpha_s + \beta_s Z_s^1 \\ U_p &= \alpha_p + \beta_p Z_p^1 \end{aligned} \quad (4.2)$$

Cuando la respuesta de la preparación estándar  $U_s$ , es igual a la respuesta de la preparación desconocida  $U_p$ , es decir,

$$U = U_s = U_p$$

se obtiene:

$$\begin{aligned} U &= \alpha_s + \beta_s Z_s^1 \\ U &= \alpha_p + \beta_p Z_p^1 \end{aligned} \quad (4.3)$$

despejando  $Z_s$  y  $Z_p$  de (4.3), se obtiene

$$Z_s^A = \frac{U - \alpha_s}{\beta_s} \quad (4.4)$$

$$Z_p^A = \frac{U - \alpha_p}{\beta_p}$$

En virtud de que la potencia  $\rho$ , se define como el cociente entre las dosis equivalentes de la preparación estándar y de la preparación desconocida, de (4.4) se sigue que:

$$\begin{aligned} \rho^A &= (Z_s / Z_p)^A \\ &= \frac{(U - \alpha_s)}{\beta_s} \cdot \frac{\beta_p}{(U - \alpha_p)} \\ &= \frac{(U - \alpha_s)}{(U - \alpha_p)} \cdot \frac{\beta_p}{\beta_s} \end{aligned} \quad (4.5)$$

Esto es,

$$\begin{aligned} \rho &= \rho(U) \\ &= \left\{ \frac{(U - \alpha_s)}{(U - \alpha_p)} \cdot \frac{\beta_p}{\beta_s} \right\}^{1/A} \end{aligned} \quad (4.6)$$

Claramente, la expresión (4.6) es una función no constante de  $U$  que puede resultar mas o menos difícil de analizar e interpretar. Sin embargo, si se tiene que  $\alpha_s = \alpha_p$  entonces  $\rho$  resulta constante en  $U$  y el problema se simplifica notablemente. En otras palabras, para que se cumpla la condición de similitud es necesario y suficiente que se cumpla la igualdad:

$$\alpha_p = \alpha_s = \alpha \quad (4.7)$$

Debe notarse que este valor común es la respuesta a la dosis cero, y que entonces la hipótesis de similitud conduce al empleo de modelos que se intersectan al origen. De modo que

$$\rho^1 = \frac{\beta_p}{\beta_s}$$

o equivalentemente

$$\rho = \left( \frac{\beta_p}{\beta_s} \right)^{1/1} \quad (4.8)$$

expresiones, las últimas que dan origen al término Modelos de Razón de Pendientes,

De cualquier forma, despejando  $\beta_p$  se obtiene,

$$\beta_p = \rho^1 \beta_s \quad (4.9)$$

Sustituyendo los resultados (4.7) y (4.9) en la ecuación (4.2)

$$U_s = \alpha + \beta_s Z_s^1, \quad (4.10)$$

$$U_p = \alpha + \beta_s \rho^1 Z_p^1$$

Utilizando las transformaciones:

$$X = Z^d, \quad Y_s = U_s, \quad Y_p = U_p, \quad \beta_s = \beta$$

se obtienen las líneas de regresión para las dos preparaciones, en términos de la respuesta esperada y la dosis transformada de la forma:

$$\begin{aligned} Y_s &= \alpha + \beta X \\ Y_p &= \alpha + \beta \rho^d X \end{aligned} \quad (4.11)$$

Nuevamente, debe notarse que  $\rho = (\beta_p / \beta_s)^{1/d}$  es la solución al problema si  $\beta_s$  y  $\beta_p$  son conocidas ( $d$  es típicamente seleccionada por el experimentador). Cuando se desconoce el valor de  $\beta_s$  y  $\beta_p$  el procedimiento consiste en estimarlos por máxima verosimilitud a partir de los datos provistos por el bioensayo correspondiente. Si el estimador de  $\beta_s$  es  $\hat{\beta}_s$  y el de  $\beta_p$  es  $\hat{\beta}_p$ , entonces recurriendo a la propiedad de invarianza del método de máxima verosimilitud se tiene que:

$$\hat{\rho} = R = (\hat{\beta}_p / \hat{\beta}_s)^{1/d}$$

Partiendo de observaciones normales, independientes y de varianza constante el procedimiento de estimación es el siguientes.

Sean

$$y_{si} = \alpha + \beta_s X_s + E_{si}, \quad E_s \sim N(0, \sigma_s^2)$$

$\varepsilon_{si}$  independientes,  $i=1, \dots, n$

la ecuación de regresión para la preparación estándar con  $\varepsilon_s$  representando el error involucrado en las observaciones de la preparación estándar.

Y

$$y_p = \alpha + \beta_p X_p + \varepsilon_{pj}, \quad \varepsilon_{pj} \sim N(0, \sigma_p^2)$$

$\varepsilon_{pj}$  independientes,  $j=1, \dots, m$

la ecuación de regresión para la preparación prueba,  $\varepsilon_p$  representa el error involucrado en las observaciones de la preparación prueba. Incorporando los supuestos adicionales

$$\sigma_s^2 = \sigma_p^2 = \sigma^2, \quad \varepsilon_{si} \text{ independientes de } \varepsilon_{pj}$$

Bajo la hipótesis

$$H_0: \alpha_s = \alpha_p = \alpha$$

Las funciones de densidad para  $y_s$  y  $y_p$  son entonces de la forma:

$$f_s(y_s | \alpha_s, \beta_s, \sigma^2) = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha_s - \beta_s X_{si})^2}$$

$$f_p(y_p | \alpha_p, \beta_p, \sigma^2) = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{m}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha_p - \beta_p X_{pj})^2}$$

Que producen la densidad conjunta  $L$ , si  $\alpha = \alpha_s = \alpha_p$

$$L = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n+m}{2}} e^{-\frac{1}{2\sigma^2} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha - \beta_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha - \beta_p x_{pj})^2 \right]}$$

$$\Rightarrow \ln L = -\frac{n+m}{2} \ln(2\pi\sigma^2) - \frac{1}{2\sigma^2} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha - \beta_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha - \beta_p x_{pj})^2 \right]$$

de donde

$$\frac{d \ln L}{d \sigma^2} = -\frac{n+m}{2} \frac{2\pi}{2\pi\sigma^2} + \frac{1}{2\sigma^4} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha - \beta_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha - \beta_p x_{pj})^2 \right]$$

así que:

$$\frac{d \ln L}{d \sigma^2} = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$-\frac{n+m}{2\sigma^2} + \frac{1}{2\sigma^4} \left[ \sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_p x_{pj})^2 \right] = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$-\frac{2\sigma^2}{n+m} + 2\sigma^4 \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_p x_{pj})^2}{\sigma^2} \right] = 0$$

$\Leftrightarrow$

$$\hat{\sigma}^2 \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_p x_{pj})^2}{\sigma^2} \right] = \frac{1}{n+m}$$

$\Leftrightarrow$

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{si} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_s x_{si})^2 + \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \hat{\alpha} - \hat{\beta}_p x_{pj})^2}{n+m} \quad (4.12)$$



Por otra parte, en lo que respecta a  $\alpha$  se tiene

$$\begin{aligned} \frac{d\ell}{d\alpha} &= -\frac{1}{2\sigma^2} \left[ 2 \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha - \beta_s x_{si}) (-1) + 2 \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha - \beta_p x_{pj}) (-1) \right] \\ &= 0 \quad \Leftrightarrow \\ &\quad \sum_{i=1}^n y_{si} - n\hat{\alpha} - \hat{\beta}_s \sum_{i=1}^n x_{si} + \sum_{j=1}^m y_{pj} - m\hat{\alpha} - \hat{\beta}_p \sum_{j=1}^m x_{pj} = 0 \\ \Leftrightarrow & \\ &\quad n\bar{y}_s - n\hat{\alpha} - \hat{\beta}_s n\bar{x}_s + m\bar{y}_p - m\hat{\alpha} - \hat{\beta}_p m\bar{x}_p = 0 \\ \Leftrightarrow & \\ &\quad (-n-m)\hat{\alpha} - \hat{\beta}_s n\bar{x}_s - \hat{\beta}_p m\bar{x}_p = -n\bar{y}_s - m\bar{y}_p \\ \Leftrightarrow & \\ &\quad (n+m)\hat{\alpha} + \hat{\beta}_s n\bar{x}_s + \hat{\beta}_p m\bar{x}_p = \\ &\quad \quad \quad \quad n\bar{y}_s + m\bar{y}_p \end{aligned} \quad (4.13)$$

Para  $\beta_s$  el procedimiento es similar:

$$\frac{d\ell}{d\beta_s} = -\frac{1}{2\sigma^2} 2 \sum_{i=1}^n (y_{si} - \alpha - \beta_s x_{si}) (-x_{si})$$

de modo que:

$$\begin{aligned} \frac{d\ell}{d\beta_s} &= 0 \quad \Leftrightarrow \\ &\quad \sum_{i=1}^n y_{si} x_{si} - \hat{\alpha} \sum_{i=1}^n x_{si} - \hat{\beta}_s \sum_{i=1}^n x_{si}^2 = 0 \\ \Leftrightarrow & \\ &\quad \hat{\alpha} n\bar{x}_s + \hat{\beta}_s \sum_{i=1}^n x_{si}^2 = \sum_{i=1}^n y_{si} x_{si} \end{aligned} \quad (4.14)$$

Finalmente, para  $\beta_p$

$$\frac{d\ell}{d\beta_p} = -\frac{1}{2\sigma^2} 2 \sum_{j=1}^m (y_{pj} - \alpha - \beta_p x_{pj}) (-x_{pj})$$

y en consecuencia

$$\begin{aligned} \frac{dL}{d\beta_p} = 0 & \iff \\ \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} - \hat{\alpha} \sum_{j=1}^m X_{pj} - \hat{\beta}_p \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 = 0 \\ \iff \\ \hat{\alpha} m \bar{X}_p + \hat{\beta}_p \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 = \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} \end{aligned} \quad (4.15)$$

de donde se obtiene el siguiente sistema de ecuaciones de (4.13), (4.14) y (4.15)

$$(m+n)\hat{\alpha} + \hat{\beta}_s n \bar{X}_s + \hat{\beta}_p m \bar{X}_p = n \bar{Y}_s + m \bar{Y}_p \quad (4.13)$$

$$n \bar{X}_s \hat{\alpha} + \hat{\beta}_s \sum_{i=1}^n X_{si}^2 = \sum_{i=1}^n y_{si} X_{si} \quad (4.14)$$

$$m \bar{X}_p \hat{\alpha} + \hat{\beta}_p \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 = \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} \quad (4.15)$$

de (4.13)

$$\hat{\alpha} = \frac{1}{n+m} [n(\bar{Y}_s - \hat{\beta}_s \bar{X}_s) + m(\bar{Y}_p - \hat{\beta}_p \bar{X}_p)] \quad (4.16)$$

sustituyendo y reagrupando (4.16) en (4.14) se obtiene:

$$[(m+n) \sum_{i=1}^n X_{si}^2 - n^2 \bar{X}_s] \hat{\beta}_s - (nm \bar{X}_p \bar{X}_s) \hat{\beta}_p = (n+m) \sum_{i=1}^n y_{si} X_{si} - n^2 \bar{X}_s \bar{Y}_s - n m \bar{Y}_p \bar{X}_s$$

sustituyendo y reagrupando (4.16) en (4.15)

$$[(m+n) \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 - m^2 \bar{X}_p] \hat{\beta}_p - (nm \bar{X}_p \bar{X}_s) \hat{\beta}_s = (n+m) \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} - m^2 \bar{Y}_p \bar{X}_p - mn \bar{X}_p \bar{Y}_s$$

De donde se obtiene el sistema:

$$\left[ (m+n) \sum_{i=1}^n X_{si}^2 - n^2 \bar{X}_s^2 \right] \hat{\beta}_s - (nm \bar{X}_p \bar{X}_s) \hat{\beta}_p = (n+m) \sum_{i=1}^n y_{si} X_{si} - n^2 \bar{y}_s \bar{X}_s - nm \bar{y}_p \bar{X}_s \quad (4.17)$$

$$- (mn \bar{X}_p \bar{X}_s) \hat{\beta}_s + \left[ (m+n) \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 - m^2 \bar{X}_p^2 \right] \hat{\beta}_p = (m+n) \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} - m^2 \bar{y}_p \bar{X}_p - nm \bar{X}_p \bar{y}_s$$

con dos ecuaciones lineales y dos variables cuya solución, numérica, típicamente no presenta problemas. Sin embargo, las expresiones generales para las soluciones en  $\hat{\beta}_s$  y  $\hat{\beta}_p$  resultan un tanto complicadas si no se hace uso del siguiente artificio:

Sean

$$X_{si}^* = \begin{cases} X_{si} & ; i=1, \dots, n \\ 0 & ; i=n+1, \dots, n+m \end{cases} \quad y_{si}^* = \begin{cases} y_{si} & ; i=1, \dots, n \\ 0 & ; i=n+1, \dots, n+m \end{cases}$$

$$X_{pj}^* = \begin{cases} X_{pj} & ; j=1, \dots, m \\ 0 & ; j=m+1, \dots, m+n \end{cases} \quad y_{pj}^* = \begin{cases} y_{pj} & ; j=1, \dots, m \\ 0 & ; j=m+1, \dots, m+n \end{cases}$$

De donde es inmediato observar que:

$$\begin{aligned} \sum_{i=1}^{n+m} X_{si}^* &= \sum_{i=1}^n X_{si} & ; & \sum_{j=1}^{m+n} X_{pj}^* &= \sum_{j=1}^m X_{pj} & ; \\ \sum_{i=1}^{n+m} X_{si}^{*2} &= \sum_{i=1}^n X_{si}^2 & ; & \sum_{j=1}^{m+n} X_{pj}^{*2} &= \sum_{j=1}^m X_{pj}^2 & ; \\ \sum_{i=1}^{n+m} y_{si}^* &= \sum_{i=1}^n y_{si} & ; & \sum_{j=1}^{m+n} y_{pj}^* &= \sum_{j=1}^m y_{pj} & ; \\ \sum_{i=1}^{n+m} y_{si}^* X_{si}^* &= \sum_{i=1}^n y_{si} X_{si} & ; & \sum_{j=1}^{m+n} y_{pj}^* X_{pj}^* &= \sum_{j=1}^m y_{pj} X_{pj} & . \end{aligned}$$

y por lo tanto el sistema (4.17) se puede reescribir como sigue:

$$\begin{aligned} & \left[ (m+n) \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^{*2} - \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right)^2 \right] \hat{\beta}_s - \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \hat{\beta}_p = (n+m) \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* X_{s2}^* - \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* \right) \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \\ & - \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \hat{\beta}_s + \left[ (m+n) \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^{*2} - \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right)^2 \right] \hat{\beta}_p = (m+n) \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* X_{rj}^* - \left( \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* \right) \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) - \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* \right) \end{aligned}$$

o equivalentemente:

$$\begin{aligned} & (m+n) \left[ \sum_{i=1}^{n+m} (X_{s2}^* - \bar{X}_s^*)^2 \right] \hat{\beta}_s - \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \hat{\beta}_p = (n+m) \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* X_{s2}^* - \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* \right) \\ & \quad - \left( \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \\ & - \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} X_{s2}^* \right) \hat{\beta}_s + (n+m) \left[ \sum_{j=1}^{m+n} (X_{rj}^* - \bar{X}_p^*)^2 \right] \hat{\beta}_p = (n+m) \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* X_{rj}^* - \left( \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* \right) \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) - \left( \sum_{j=1}^{m+n} X_{rj}^* \right) \left( \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* \right) \end{aligned}$$

o bien,

$$\begin{aligned} & \left[ \sum_{i=1}^{n+m} (X_{s2}^* - \bar{X}_s^*)^2 \right] \hat{\beta}_s - \bar{X}_s^* X_p^* \hat{\beta}_p = \sum_{i=1}^{n+m} Y_{s2}^* X_{s2}^* - \bar{X}_s^* Y_s^* - Y_p^* X_s^* \quad (4.18) \\ & - X_p^* X_s^* \hat{\beta}_s + \left[ \sum_{j=1}^{m+n} (X_{rj}^* - \bar{X}_p^*)^2 \right] \hat{\beta}_p = \sum_{j=1}^{m+n} Y_{rj}^* X_{rj}^* - \bar{X}_p^* Y_p^* - Y_s^* \bar{X}_p^* \end{aligned}$$

donde:

$$\begin{aligned} \bar{Y}_s^* &= \frac{1}{n+m} Y_s^* & ; & & \bar{Y}_p^* &= \frac{1}{m+n} Y_p^* \\ \bar{X}_s^* &= \frac{1}{n+m} X_s^* & ; & & \bar{X}_p^* &= \frac{1}{m+n} X_p^* \end{aligned}$$

De cualquier forma, si se rearreglan y se reenumeran las observaciones en  $y$  como:

$$y_k = \begin{cases} y_{sk} & ; k=1, \dots, n \\ y_{pk-n} & ; k=n+1, \dots, n+m \end{cases}$$

entonces

$$\hat{\beta}_s = \sum_{k=1}^{n+m} \pi_k y_k \quad ; \quad \hat{\beta}_p = \sum_{k=1}^{n+m} \nu_k y_k \quad (4,19)$$

donde

$$\pi_k = \begin{cases} \frac{V_p X_{sk} - V_p X_s^* - \bar{X}_s^* X_p^* \bar{X}_p^*}{\Delta} & \text{si } k=1, \dots, n \\ \frac{\bar{X}_s^* X_p^* X_{pk-n} - \bar{X}_s^* X_p^* \bar{X}_p^* - V_p \bar{X}_s^*}{\Delta} & \text{si } k=n+1, \dots, n+m \end{cases}$$

$$\nu_k = \begin{cases} \frac{\bar{X}_s^* X_s^* X_{sk} - \bar{X}_p^* X_s^* \bar{X}_s^* - V_s \bar{X}_p^*}{\Delta} & \text{si } k=1, \dots, n \\ \frac{V_s X_{pk-n} - V_s \bar{X}_p^* - \bar{X}_p^* X_s^* \bar{X}_s^*}{\Delta} & \text{si } k=n+1, \dots, n+m \end{cases}$$

con

$$A = [V_S V_P - (m+n)^2 (\bar{X}_P \bar{X}_S)^2]$$

$$V_S = \sum_{i=1}^{m+n} (X_{Si}^* - \bar{X}_S^*)^2 \quad ; \quad V_P = \sum_{j=1}^{m+n} (X_{Pj}^* - \bar{X}_P)^2$$

Volviendo al problema original de estimación, se tiene de la ecuación (4.11) que:

$$R = \left( \frac{\hat{\beta}_P}{\hat{\beta}_S} \right)^{1/4}$$

como consecuencia, el estimador de máxima verosimilitud de  $\rho$  (sustituyendo  $\hat{\beta}_P$  y  $\hat{\beta}_S$ ) está dado por:

$$R = \left[ \frac{\sum_{k=1}^{m+n} \sqrt{y_k} y_k}{\sum_{k=1}^{m+n} \pi_k y_k} \right] \quad (4.20)$$

que es el estimador puntual de potencia para los ensayos de Razón de Pendientes. Ahora, lo que resta es construir el intervalo de confianza correspondiente para el verdadero valor de  $\rho$ .

De la ecuación (4.7)

$$\rho^4 = \left( \frac{\beta_P}{\beta_S} \right)$$

y, si se desea encontrar  $R_1$  y  $R_2$ , estadísticas tales que:

$$P[R_1 < \rho < R_2] = 1 - \alpha$$

o equivalente:

$$P[R_1^d < \rho^d < R_2^d] = 1 - \alpha \quad (4.21)$$

donde el sentido de las desigualdades en (4.21) puede cambiar, dependiendo del signo de  $d$ .

Lo verdaderamente interesante es que bajo los supuestos de estimación de  $\beta_s$  y  $\beta_p$  ocurre que, de acuerdo con (4.19),  $\hat{\beta}_s$  y  $\hat{\beta}_p$  resultan combinaciones lineales de observaciones normales por tanto son variables aleatorias normales cuyas medias son  $\beta_s, \beta_p$  respectivamente. En estas circunstancias el problema de estimar por intervalos a  $\rho^d$  se puede abordar como en el caso del capítulo III, mediante el teorema de Fieller como sigue:

Sean

$$V = \hat{\beta}_p, \quad W = \hat{\beta}_s \quad (4.22)$$

y

$$V^* = \beta_p, \quad W^* = \beta_s \quad (4.23)$$

entonces:

$$V \sim N(V^*, \sigma_V^2)$$

$$W \sim N(W^*, \sigma_W^2)$$

considere:

$$\eta = \frac{V^*}{W^*} \quad (4.24)$$

y

$$U = V - \eta W \quad (4.25)$$

entonces es claro que:

$$U \sim N(0, \sigma_U^2)$$

puesto que:

$$E(U) = V^* - \eta W^* = 0$$

además,

$$\sigma_U^2 = \sigma_V^2 + \eta^2 \sigma_W^2 - 2\eta \sigma_{VW} \quad (4.26)$$



esto implica que:

$$\frac{U}{\sigma_U} \sim N(0, 1)$$

De donde es posible encontrar constantes  $A_1$  y  $A_2$  tales que:

$$P[A_1 < \frac{U}{\sigma_U} < A_2] = 1 - \alpha, \quad (\alpha \in (0, 1))$$

como consecuencia:

$$P[A_1 \sigma_U < U < A_2 \sigma_U] = 1 - \alpha$$

sustituyendo el valor de  $U$  de la ecuación (4,25)

$$P[A_1 \sigma_U < V - \eta W < A_2 \sigma_U] = 1 - \alpha$$

o equivalentemente:

$$P[A_1 \sigma_U - V < -\eta W < A_2 \sigma_U - V] = 1 - \alpha$$

esto es,

$$P[V - A_2 \sigma_U < \eta W < V - A_1 \sigma_U] = 1 - \alpha$$

Si y solo si:

$$P \left[ \frac{V}{W} - A_2 \frac{\sigma_{VW}}{W} < \eta < \frac{V}{W} - A_1 \frac{\sigma_{VW}}{W} \right] = 1 - \alpha \quad (4.27)$$

En el caso de bioensayo que se trata,  $V = \hat{\beta}_p$ ,

$$W = \hat{\beta}_s, \quad \eta = \frac{V}{W} = \frac{\beta_p}{\beta_s}$$

de modo que:

$$\frac{V}{W} = \frac{\hat{\beta}_p}{\hat{\beta}_s}$$

coincide con el estimador de máxima verosimilitud de  $\eta = \beta_p / \beta_s$  debido a la propiedad de invarianza de ese método de estimación. Es decir, para el caso de bioensayo  $V/W = \hat{\eta}$ . Por lo tanto (4.26) se puede reescribir como sigue:

$$P \left[ \hat{\eta} - A_2 \frac{\sigma_{VW}}{\hat{\beta}_s} < \eta < \hat{\eta} - A_1 \frac{\sigma_{VW}}{\hat{\beta}_s} \right] = 1 - \alpha \quad (4.28)$$

De la expresión (4.28) se sigue que, si  $\sigma_{VW}$  es conocida y en virtud de que  $A_1$  y  $A_2$  son constantes que se obtienen de tablas mientras que  $\hat{\eta}$  y  $\hat{\beta}_s$  son valores estimados a partir de los datos, el intervalo:

$$\left[ \hat{\eta} - A_2 \frac{\sigma_v}{\hat{\beta}_s}, \hat{\eta} - A_1 \frac{\sigma_v}{\hat{\beta}_s} \right]$$

(4,29)

puede ser empleado como un intervalo del  $(1-\alpha)$  por ciento de confianza para  $\eta = \rho'$ . El problema que resta por resolverse es el estimar a  $\sigma_v$ , ya que generalmente no es conocida, obteniéndose así un intervalo aproximado si esta desviación estándar se sustituye por un estimador apropiado. Si se utiliza la propiedad de invarianza, el estimador de  $\sigma_v$  puede ser calculado a partir de  $\sigma_v^2$ , en la forma siguiente:

De la ecuación (4.26)

$$\sigma_v^2 = \sigma_v^2 + \eta^2 \sigma_w^2 - 2\eta \sigma_{vw}$$

donde

$$\begin{aligned} \sigma_v^2 &= V(\beta_p) = V\left(\sum_{k=1}^{n+m} \mathcal{V}_k y_k\right) \\ &= \sum_{k=1}^{n+m} \mathcal{V}_k^2 V(y_k) = \sigma^2 \sum_{k=1}^{n+m} \mathcal{V}_k^2 \end{aligned} \quad (4,30)$$

$$\begin{aligned}
 \sigma_W^2 &= V(\hat{\beta}_s) \\
 &= V\left(\sum_{k=1}^{n+m} \pi_k y_k\right) \\
 &= \sum_{k=1}^{n+m} \pi_k^2 V(y_k) \\
 &= \sigma^2 \sum_{k=1}^{n+m} \pi_k^2
 \end{aligned} \tag{4.31}$$

$$\begin{aligned}
 \sigma_{VW} &= \text{cov}(\hat{\beta}_p, \hat{\beta}_s) \\
 &= \text{cov}\left(\sum_{k=1}^{n+m} v_k y_k, \sum_{k=1}^{n+m} \pi_k y_k\right) \\
 &= \sum_{k=1}^{n+m} v_k \pi_k \text{cov}(y_k, y_k) \\
 &= \sigma^2 \sum_{k=1}^{n+m} v_k \pi_k
 \end{aligned} \tag{4.32}$$

de forma que, sustituyendo las ecuaciones (4.30), (4.31) y (4.32) en (4.26) se sigue que:

$$\begin{aligned}
 \sigma_V^2 &= \sigma^2 \sum_{k=1}^{n+m} v_k^2 + \sigma^2 \eta^2 \sum_{k=1}^{n+m} \pi_k^2 - \sigma^2 2\eta \sum_{k=1}^{n+m} v_k \pi_k \\
 &= \sigma^2 \left\{ \sum_{k=1}^{n+m} [v_k^2 + \eta^2 \pi_k^2 - 2\eta v_k \pi_k] \right\} \\
 &= \sigma^2 \left\{ \sum_{k=1}^{n+m} [v_k - \eta \pi_k]^2 \right\}
 \end{aligned}$$

Por lo tanto y recurriendo nuevamente al principio de invarianza, se tiene que el estimador por máxima verosimilitud de  $\sigma_v$  está dado por:

$$\hat{\sigma}_v = \left\{ \hat{\sigma}^2 \sum_{k=1}^{ntm} [v_k - \hat{\eta} \pi_k]^2 \right\}^{1/2}$$

y consecuentemente,

$$\left[ \frac{\hat{\beta}_p - A_2 \hat{\sigma}_v}{\hat{\beta}_s}, \frac{\hat{\beta}_p - A_1 \hat{\sigma}_v}{\hat{\beta}_s} \right]$$

es un intervalo de aproximadamente  $(1-\alpha)$  por ciento de confianza para  $\rho^1$ , de donde puede obtenerse el correspondiente para  $\rho$  con las debidas precauciones respecto al signo de  $A$  y al signo de las diferencias  $\hat{\beta}_p - A_2 \hat{\sigma}_v$  y  $\hat{\beta}_p - A_1 \hat{\sigma}_v$ .

## CONCLUSIONES

1. La forma clara y sencilla de exponer las consideraciones generales de un Bioensayo, así como la paulatina introducción a la terminología y estructura de éste, hacen del presente trabajo una herramienta útil al estudiante o investigador que se inicia en el tema.
2. El uso apropiado de las técnicas estadísticas para el Bioensayo, proporciona facilidad y conveniencia teórica para el conocimiento de la potencia de la preparación prueba y sus límites de confianza.
3. Eventualmente en la actualidad, las investigaciones con características de un Bioensayo no emplean para el estudio de los resultados las aplicaciones de éste, sino más bien son reemplazadas por los modelos llamados de Análisis de Varianza, ocasionando que exista pérdida de información.
4. El panorama antes obtenido permite sugerir que los modelos para Bioensayo, que no se limitan a los aquí presentados, deben ser reconsiderados y revalorados por los estadísticos, particularmente por aquellos que laboran como asesores de investigaciones de origen Biológico.

## REFERENCIAS

- Bliss C.I. and Cattell M., (1934). Biological Assay. Annual Review of Physiology. 5, 479-539.
- Draper N. and Smith H. (1982). Applied Regression Analysis. John Wiley and Sons, Second Edition, New York.
- Finney D.J., (1955). Experimental design and Statistical Basis. The University of Chicago & London, pp.123-141.
- Finney D.J., (1971). Statistical Method in Biological Assay. Griffin. Second Edition, London pp,1-136, 187-213.
- Hicks, CH.R., (1973). Fundamental Concepts in the design of Experiments. Holt, Rinehart and Winston. Second Edition, New York.
- Jerne, N.K. and Wood Eric C., (1949). The Validity and meaning of the results of biological Assays Biometrics. 5, 273-299.
- Young D.M. and Romans R.G., (1948). Assays of Insulin with one blood sample per rabbit per test day. Biometrics 4, 122-131.