

ANÁLISE DE COVARIÂNCIA: UMA APLICAÇÃO A DADOS DE FUNÇÃO PULMONAR, AJUSTADOS POR IDADE

ANALYSIS OF COVARIANCE: APPLICATION TO PULMONARY FUNCTION DATA, ADJUSTED FOR AGE

Marilyn Agranonik¹, Leticia Rocha Machado²

RESUMO

Introdução: Em diversas situações estamos interessados em comparar médias entre dois ou mais grupos. A relação entre estas variáveis pode ser influenciada por uma terceira variável. Esta última é conhecida como covariável e deve ser incluída na análise estatística. Quando essa variável é quantitativa utiliza-se Análise de Covariância (ANCOVA). No contexto da fibrose cística (FC), o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) é uma medida de função pulmonar conhecida por desempenhar importante papel na monitorização de pacientes. Estudos mostram que mulheres com FC apresentaram valores mais baixos de VEF1. Entretanto, a influência da idade também deve ser considerada.

Objetivo: Apresentar a aplicabilidade da ANCOVA, suas suposições e a interpretação de seus resultados, através de um exemplo envolvendo a relação entre VEF1 e gênero, considerando a idade dos pacientes como covariável.

Métodos: Foram utilizados dados obtidos por simulação, considerando VEF1 com distribuição normal (média=86; DP=21). ANCOVA foi utilizada para avaliar diferença média de VEF1 entre homens e mulheres, ajustada por idade.

Resultados: Foram analisados dados de 64 pacientes, idade média de 12 anos (DP=2,5) e VEF1 médio de 85,9 (DP=20,73). Na avaliação inicial do VEF1, as mulheres apresentaram, em média, valores significativamente maiores do que os homens (P=0,021). Entretanto, após o ajuste por idade, esta relação deixou de ser significativa (P=0,100).

Conclusão: Esses dados ilustram a influência de uma covariável na relação entre um fator em estudo e o desfecho. Verificou-se a partir da ANCOVA, que o efeito aparente de gênero no VEF1 desaparece com o ajuste para idade do paciente.

Palavras-chave: *Análise de covariância; análise ajustada; volume expiratório forçado no primeiro segundo*

ABSTRACT

Background: In several situations there is an interest in comparing means between two or more groups. The relationship between these variables may be influenced by a third variable, known as covariate, which should be included in the statistical analysis. When the covariate is a quantitative variable, analysis of covariance (ANCOVA) should be used. In the context of cystic fibrosis (CF), forced expiratory volume in 1 second (FEV1) is a measure of pulmonary function known to play an important role in patient monitoring. Studies have shown that women with CF have lower FEV1. However, the influence of age should also be considered.

Aim: To demonstrate the applicability of ANCOVA, with assumptions and interpretation of results, using an example involving the relationship between FEV1 and gender, considering patient age as a covariate.

Methods: Data were obtained by simulation, considering FEV1 as normally distributed (mean=86; SD=21). ANCOVA was used to assess mean differences in FEV1 between men and women, adjusted for age.

Results: Data from 64 patients [mean age: 12 years (SD=2.5)] were analyzed, and mean FEV1 was 85.9 (SD=20.73). At baseline, women had average FEV1 values significantly higher than men (P=0.021). However, after adjusting for age, this relationship was no longer significant (P=0.100).

Conclusion: These data illustrate the influence that a covariate may have on the relationship between factors under study and the outcome of interest. ANCOVA revealed that the apparent effect of gender on FEV1 disappears after adjustment for patient age.

Keywords: *Analysis of covariance; adjusted analysis; forced expiratory volume in 1 second*

Rev HCPA 2011;31(2):248-253

Fibrose cística (FC) é uma doença genética fatal, mais comum na população caucasiana, sendo que a maior parte da morbidade e mortalidade associadas a essa doença devem-se ao acometimento respiratório. Estratégias mais recentes de manejo da doença baseiam-se na monitorização da progressão da patologia pulmonar (1). Nesse contexto, as medidas da função pulmonar têm um papel primordial, em parte por serem reprodutíveis e não invasivas.

A espirometria é um exame são medidos fluxo e volumes aéreos gerados por uma expiração forçada e mantida. A medida dos parâmetros obtidos é então comparada com os valores previstos, considerando idade, altura, peso, raça e gênero, e expressa através do percentual alcançado em relação aos índices considerados adequados. Embora exista grande variabilidade em pacientes fibrocísticos, e não seja considerado um sinalizador de alterações prematuras, o

1. Programa de Pós-Graduação - Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

2. Departamento de Pediatria (UFRGS); Unidade de Pneumologia Pediátrica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Contato: Marilyn Agranonik. E-mail: m_agrano@yahoo.com.br (Porto Alegre, RS, Brasil).

volume de fluxo expiratório no primeiro segundo (VEF1) ainda é o parâmetro mais utilizado para monitorar a função pulmonar. Essa monitorização desempenha um papel fundamental no manejo da doença, proporcionando uma análise mais acurada da extensão e progressão do acometimento pulmonar, bem como a resposta às intervenções terapêuticas.

Mesmo mantendo um tratamento adequado, a função pulmonar decai gradualmente com a idade nos pacientes com fibrose cística, sendo essa queda estimada em torno de 0,8% ao ano (2). A velocidade do declínio e o padrão com que isso ocorre é extremamente variável entre os pacientes e depende de inúmeros fatores, a saber: gênero, tipo de mutação gênica, grau de suficiência pancreática, presença de diabetes relacionado à FC, estado nutricional, infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, frequência e intensidade das exacerbações pulmonares, entre outros (3).

A queda do VEF1 prediz um maior número de hospitalizações e morte em pacientes com doença obstrutiva crônica e, na fibrose cística, foi relacionada a piores desfechos e a um mais rápido declínio. Corey et al (4) mostraram que pacientes do gênero feminino apresentaram valores de VEF1 mais baixos do que pacientes do gênero masculino ao longo do tempo. Estudos mostram que determinadas faixas etárias são mais propensas a quedas mais rápidas do VEF1 (5).

Sob o ponto de vista estatístico, é possível avaliar a relação entre os valores de VEF1 e gênero, através da comparação de médias de VEF1 entre homens e mulheres. Também é possível avaliar relação entre idade e VEF1. E ainda podemos estar interessados em avaliar a relação entre estas três variáveis.

De forma semelhante à mencionada acima, em diversas outras situações estamos interessados em comparar médias entre dois ou mais grupos. Algumas vezes a relação entre essas duas variáveis é influenciada por uma terceira variável, um possível fator confundidor. Quando isso acontece é necessário utilizar uma análise estatística que considere essa situação. Usualmente são utilizados modelos de regressão linear para solucionar este problema (6). Através de modelos de regressão podemos prever os valores da variável resposta de acordo com os valores de um ou mais fatores de interesse. Além disso, eles possibilitam o ajuste dessa relação por uma ou mais variáveis.

Entretanto, se o foco for a comparação de médias ajustadas, deve-se utilizar a Análise de Covariância (ANCOVA). ANCOVA é uma extensão da Análise de Variância (ANOVA), incluindo uma ou mais variáveis quantitativas correlacionadas ao desfecho de interesse. Estas variáveis contínuas são incluídas na análise devido à

influência que elas possuem sobre o desfecho e são conhecidas como covariáveis.

Este artigo tem como objetivo apresentar a aplicabilidade da ANCOVA, suas suposições e a interpretação de seus resultados, através de um exemplo avaliando a relação entre VEF1 e gênero, considerando a idade dos pacientes como uma covariável.

Análise de Variância versus Análise de Covariância

A Análise de Variância (ANOVA) é utilizada para verificar se existe diferença entre as médias de dois ou mais grupos. Para realizar uma comparação de médias através da ANOVA é necessário que: (I) a variável resposta (desfecho) tenha distribuição normal e (II) exista homogeneidade de variâncias entre os grupos (6,7). Estas suposições podem ser verificadas através de testes estatísticos. Por exemplo, para a primeira, é possível usar o teste de Shapiro-Wilk, cuja hipótese nula é de que a variável possui distribuição normal. E para a segunda suposição, pode-se utilizar o teste de Levene, cuja hipótese nula é a de igualdade de variâncias populacionais entre os grupos.

A Análise de Covariância (ANCOVA) é uma extensão da Análise de Variância (ANOVA). Diferentemente da ANOVA, a ANCOVA pode incluir uma ou mais variáveis quantitativas que estão relacionadas ao desfecho de interesse. Estas variáveis são incluídas na análise devido à influência que elas possuem sobre o desfecho e são conhecidas como covariáveis. Desse modo, para utilizar uma ANCOVA, é necessário testar, em um primeiro momento, a correlação de Pearson entre a candidata a covariável e o desfecho de interesse. Isto é, verificar se a covariável está linearmente relacionada ao desfecho. Em geral, apenas correlações superiores a 0,3 ou inferiores a -0,3 devem ser incluídas na análise. Se isso ocorrer, procede-se a ANCOVA. Segundo Hair et al. (8), através do uso de covariáveis no modelo de ANCOVA, podemos:

1. Eliminar o erro sistemático que ocorre fora do controle do pesquisador e que pode viesar os resultados;
2. Explicar diferenças nas respostas devido a características dos respondentes.

De forma semelhante à ANOVA, a ANCOVA possui as seguintes suposições: (I) a variável resposta (desfecho) deve ter distribuição normal; (II) deve existir relação linear entre a covariável e a variável resposta; (III) deve existir homogeneidade de variâncias entre os grupos e (IV) deve haver homogeneidade de coeficientes de regressão da covariável sobre a variável resposta entre os grupos (6,7). O que significa que a covariável deve ter efeito igual sobre a

variável resposta ao longo dos grupos. Em termos gráficos, as retas de regressão geradas para cada grupo, através da relação entre o desfecho e a covariável, devem ser paralelas. Estas suposições podem ser verificadas através de testes estatísticos. As duas primeiras já foram mencionadas no caso da ANOVA e é possível utilizar os mesmos testes. Para a terceira suposição, utiliza-se a correlação de Pearson. E para a quarta suposição, avalia-se um modelo de ANCOVA incluindo o termo da interação covariável*grupo. A hipótese nula, neste caso é de que não há interação, ou seja, as retas são paralelas.

Na ANCOVA é possível utilizar uma ou mais covariáveis. Entretanto, se o número de covariáveis for muito grande, há uma redução na eficiência estatística do procedimento. Segundo Hair et al (8), o número máximo de covariáveis pode ser obtido do seguinte modo:

Número máximo de covariáveis = $(0,10 \times \text{tamanho da amostra}) - (\text{Número de grupos} - 1)$

Isso significa que, para amostras pequenas ou quando o número de grupos é grande, não se deve utilizar um número alto de covariáveis. Entretanto, poucos grupos, ou o tamanho da amostra grande, permitem um número maior de covariáveis.

Para maior detalhamento técnico devem ser consultadas as referências citadas.

MÉTODOS

Será apresentada uma aplicação para a Análise de Covariância com dados gerados a partir de uma simulação. As variáveis em estudo foram geradas a partir de características observadas nos pacientes com fibrose cística do ambulatório da Unidade de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O desfecho de interesse será o VEF1. Esta variável foi gerada a partir de uma distribuição normal, com

média de 86 e desvio padrão de 21. O fator em estudo é o gênero destes pacientes, tendo sido gerado a partir de uma distribuição de Bernoulli com proporção de 0,5. E a covariável é a idade (em anos) no momento da avaliação do VEF1. Esta variável foi gerada a partir de da equação $IDADE = B_0 + B_1 * VEF_1 + \text{erro}$, para gênero masculino, $B_0 = 18$ e $B_1 = 0,06$ e para gênero feminino, $B_0 = 16,5$ e $B_1 = 0,06$, para ambos, o erro aleatório foi gerado a partir de uma distribuição normal, com média de zero e desvio padrão de 2,0. Foi realizada análise descritiva dos dados, através de média e desvio padrão (DP) para variáveis quantitativas e frequência simples e relativa para variáveis categóricas. Através do coeficiente de correlação de Pearson foi verificado se havia relação linear entre a idade (covariável) e o VEF1 (desfecho). Foi utilizado o teste t de *Student* para avaliar se havia diferença de médias de VEF1 entre homens e mulheres. Foi utilizada ANCOVA para verificar a relação entre gênero e VEF1, ajustada por idade. Para testar a suposição de igualdade de variâncias, foi utilizado o teste de Levene. A suposição de homogeneidade dos coeficientes de regressão foi testada com a inclusão de um termo de interação no modelo de ANCOVA. Em todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 18.0.

RESULTADOS

Descrição inicial dos dados

Foram analisados dados de 64 pacientes com idade média de 12 anos (DP=2,5) e VEF1 médio de 85,9 (DP=20,73). Na avaliação inicial do VEF1 (tabela 1), as mulheres apresentaram, em média, valores significativamente maiores do que os homens (P=0,021).

Tabela 1 - Comparação do VEF1 médio entre homens e mulheres.

Gênero	n	Média	DP	P*
Masculino	34	80,3	16,73	0,021
Feminino	30	92,2	23,21	

*Valor P para o teste t de *Student*. DP: desvio padrão.

Verificação das suposições da ANCOVA

A seguir serão apresentados os resultados para os testes estatísticos das suposições II a IV. A primeira suposição de normalidade para a variável VEF1 não será testada, devido a esta variável ter sido gerada a partir de uma distribuição normal. Para dados reais, esta suposição também deve ser testada.

Avaliação da suposição de relação linear entre a covariável (idade) e a variável resposta (VEF1)

Houve uma correlação negativa e significativa entre VEF1 e idade ($r = -0,440$; $P < 0,001$), indicando que quanto mais alta a idade, menor são os valores apresentados de VEF1. Através do gráfico 1, verificou-se a existência de relação linear entre VEF1 e idade (figura 1). Desse modo, verifica-se que a idade pode ser considerada uma covariável importante, que deve ser incluída na análise da relação entre gênero e VEF1.

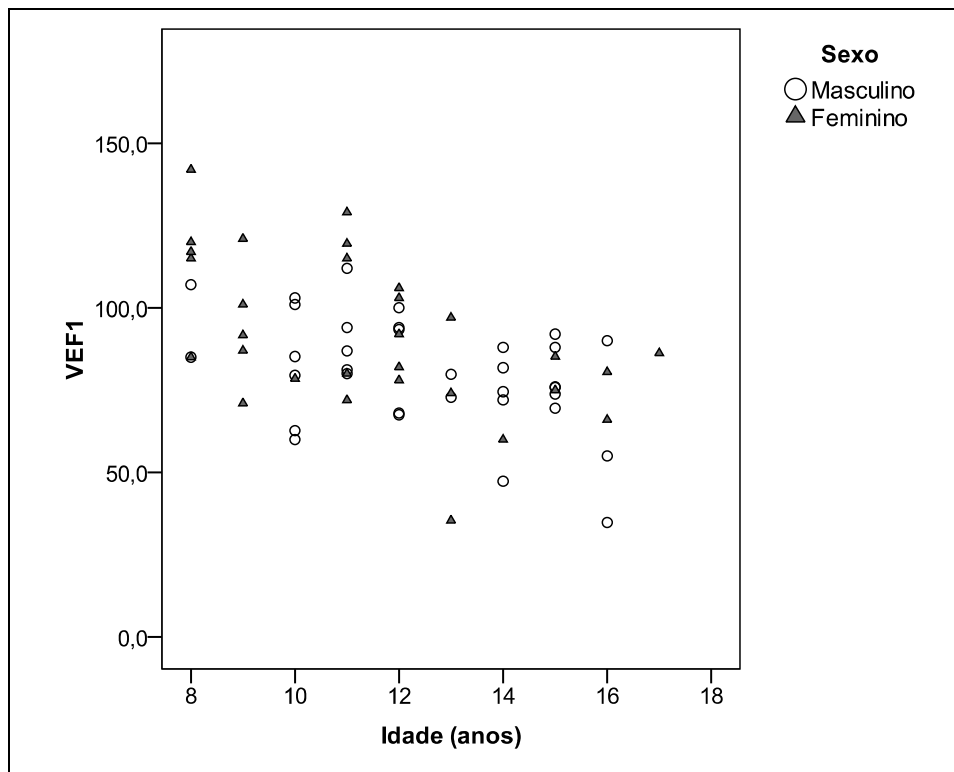


Figura 1 - Gráfico de dispersão de Idade versus VEF1.

Avaliação da suposição de homogeneidade de variâncias

De acordo com o resultado do teste de Levene para homogeneidade de variâncias, verificou-se que as variâncias de VEF1 de homens e mulheres podem ser consideradas iguais ($P = 0,091$).

Avaliação da suposição de homogeneidade de coeficientes de regressão

Para verificar se as retas são paralelas é incluído o termo de interação no modelo de ANCOVA. Para confirmar que as retas de regressão entre idade e VEF1 produzidas para cada grupo são paralelas, é necessário que a interação não seja significativa.

Para os dados analisados, a interação entre gênero e idade não é estatisticamente significativa ($P = 0,450$). Logo, verificou-se que as retas de regressão entre idade e VEF1, produzidas para cada

gênero, devem ser paralelas. Na figura 2 são apresentados os gráficos de dispersão para VEF1 versus idade, separados por gênero. Os gráficos demonstram também que as retas de regressão são paralelas.

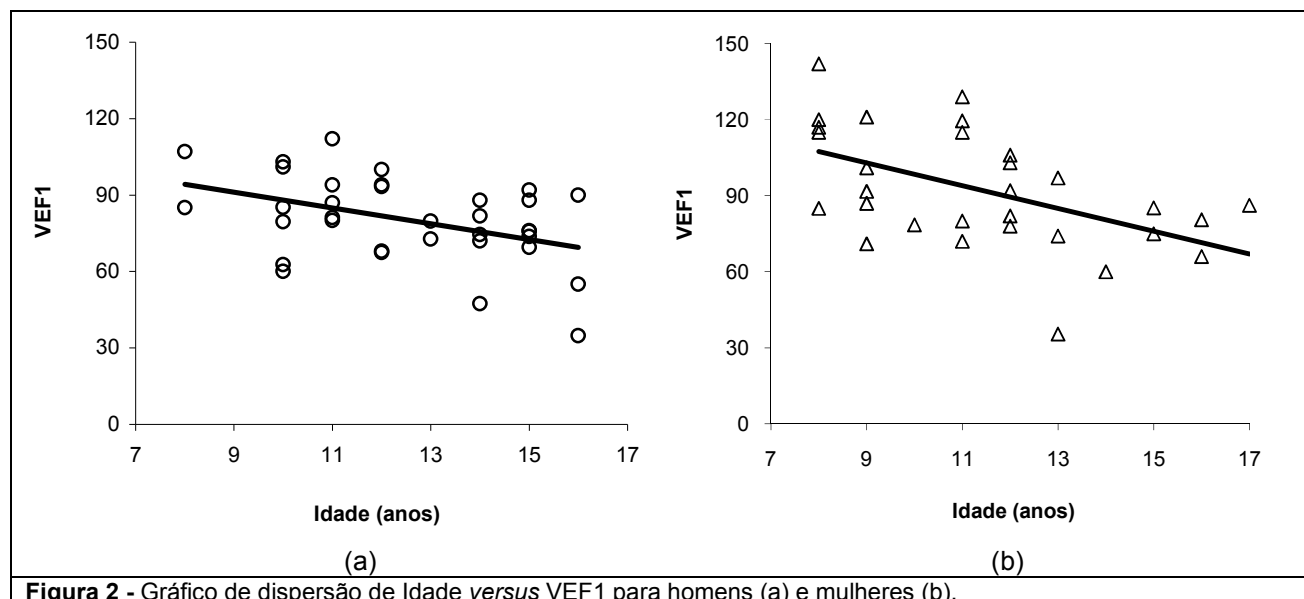


Figura 2 - Gráfico de dispersão de Idade versus VEF1 para homens (a) e mulheres (b).

Resultados da Análise de Covariância

Após o ajuste pela idade, a relação entre gênero e VEF1 deixou de ser estatisticamente significativa ($P=0,100$). Entretanto, a relação entre idade e VEF1 se mantém ($P<0,001$). Na tabela 2 são apresentadas as médias de VEF1, de acordo com gênero, ajustadas por idade.

Tabela 2 - Comparação do VEF1 médio entre homens e mulheres, ajustado por idade.

Gênero	n	Média ^a	IC95%	P*
Masculino	34	82,1	(76,2; 88,5)	0,021
Feminino	30	89,9	(83,4; 96,5)	

^aMédias ajustadas por idade. *Valor P para ANCOVA. IC95%: intervalo de 95% de confiança.

DISCUSSÃO

Este artigo descreve em quais situações deve-se utilizar a ANCOVA e como interpretar seus resultados. A ANCOVA avalia a diferença entre médias de dois ou mais grupos, considerando a relação existente entre uma covariável quantitativa e a variável resposta.

Os dados do exemplo apresentado ilustram a influência de uma covariável na relação entre um fator em estudo e o desfecho. Verificou-se a partir da ANCOVA, que o efeito aparente de gênero no VEF1 desaparece com o ajuste para idade do paciente. Comparando os

resultados da Tabela 2 com os resultados da Tabela 1, verificou-se uma modificação nos valores das médias de VEF1, sendo que a dos homens aumentou e a das mulheres diminuiu, refletindo a influência da variável idade na relação entre as variáveis gênero e VEF1.

Em conclusão, salientamos que é possível utilizar a ANCOVA quando há mais covariáveis relacionadas ao desfecho ou mais de um fator (variável categórica) em estudo. Entretanto o número de covariáveis não deve ser muito grande e as covariáveis não devem apresentar correlação entre si.

REFERÊNCIAS

1. Gappa M, Ranganathan SC, Stocks J. Lung function testing in infants with cystic fibrosis. *Pediatric Pneumology*. 2001;32(3):228-45.
2. Davis, PB. Pathophysiology of the lung disease in cystic fibrosis. In *Cystic Fibrosis*, Davis, PB (Ed), Marcel Dekker, New York, 1993.
3. Konstan MW, Morgan WJ, Butler SM, et al. Scientific Advisory Group and the Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2007 Aug;151(2):134-9, 139.e1. Epub 2007 Jun 22.
4. Corey M, Edwards L, Levison H, Knowles M. Longitudinal analysis of pulmonary function decline in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1997;131(6):809-14.
5. Liou TG, Elkin EP, Pasta DJ, Jacobs JR, Konstan MW, Morgan WJ, et al. Year-to-year changes in lung function in individuals with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2010;9(4):250-6.
6. Neter, John; Wasserman. *Applied linear statistical models*. Illinois: Richard, D. Irwin, Inc. 1974.
7. Montgomery DC. *Design and analysis of experiments*. 3rd ed. New York: Wiley, 1991.
8. Hair J, Black WC, Babin BB, Anderson RE, Tatham RL. *Análise Multivariada de Dados*. 6^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

Recebido: 17/06/2011

Aceito: 28/06/2011