

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Programa de Pós-Graduação em Biometria  
Departamento de Bioestatística

**Utilização de curvas de crescimento longitudinal com  
distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada no  
estudo da disfunção cardíaca em ratos com estenose  
aórtica supraavalvar**

Magali Teresopolis Reis Amaral

BOTUCATU  
São Paulo-Brasil  
Janeiro/2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
DEPARTAMENTO DE BIOESTATÍSTICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA

Utilização de curvas de crescimento longitudinal com  
distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada no  
estudo da disfunção cardíaca em ratos com estenose  
aórtica supravalvar

Magali Teresopolis Reis Amaral

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biometria da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP/Botucatu, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Biometria.

BOTUCATU  
São Paulo-Brasil  
Janeiro/2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Amaral, Magali Teresopolis Reis.

Utilização de curvas de crescimento longitudinal com distribuição normal theta generalizada multivariada no estudo da disfunção cardíaca em ratos com estenose aórtica supraavalvar / Magali Teresopolis Reis Amaral. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu  
Orientador: Carlos Roberto Padovani  
Capes: 10202056

1. Funções Verossimilhança. 2. Remodelação ventricular.  
3. Estenose da válvula aórtica. 4. Crescimento. 5. Análise de variância.

Palavras-chave: Máxima verossimilhança; Curva de crescimento; Estruturas de covariância; Remodelação cardíaca.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar... As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

*Chico Xavier*

# Agradecimentos

*Primeiramente não poderia deixar de expressar meus sinceros agradecimentos a Deus por me guiar, dando-me força nos momentos mais difíceis.*

*A minha eterna gratidão a minha família e em especial a meus pais Antônio de Lisboa Amaral (in memoriam) e Maria Helena Amaral, pelo grande amor e por compreenderem os longos períodos de afastamento.*

*Ao Professor Dr. Carlos Roberto Padovani, pela valiosa orientação e por acreditar em mim, apoiando-me em todos os momentos.*

*O meu profundo agradecimento aos professores, colegas e funcionários do Departamento de Bioestatística pela contribuição em minha formação profissional, convivência agradável durante esse período.*

*A Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)-Ba pelo apoio financeiro.*

*À todos que de forma direta ou indireta, contribuíram para execução deste trabalho.*

# Resumo

Em muitas situações, existe a necessidade de estudar o comportamento de alguma característica em uma mesma unidade amostral ao longo do tempo, dose acumulada de algum nutriente ou medicamento. Na prática, a estrutura dos dados dessa natureza geralmente estabelece comportamentos não lineares nos parâmetros de interesse, já que estes caracterizam melhor a realidade biológica pesquisada. Essa conjuntura é propícia ao estudo de remodelação cardíaca (RC) por sobrecarga pressórica em ratos submetidos a diferentes manobras sequenciais de cálcio. Como o comportamento da RC não está claramente estabelecido, o objetivo deste trabalho consiste em fazer um estudo comparativo sobre a performance de quatro modelos de curvas de crescimento em quatro grupos experimentais, considerando erros normais  $\theta$  generalizado multivariado. Além disso, a modelagem dos dados envolve duas estruturas de covariância: a homocedástica com a presença de autocorrelação lag 1 e a heterocedástica multiplicativa. No contexto metodológico, utiliza-se o procedimento de estimação por máxima verossimilhança com a aplicação da técnica de reamostragem bootstrap. Além disso, técnicas de simulações são implementadas para comprovação das propriedades metodológicas aplicadas. Para comparação entre os modelos, utilizam-se alguns avaliadores de qualidade de ajuste. Conclui-se, no presente estudo, que a estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1 para os modelos Brody e de Von Bertalanffy, destacam-se por apresentar excelentes estimativas e boa qualidade de ajuste da tensão máxima desenvolvida (TD) em função dos diferentes níveis de doses de cálcio.

**Palavras-chave:** Remodelação cardíaca, Curva de crescimento, Estruturas de covariância e Máxima verossimilhança.

# Abstract

Many situations, there is a need to study the behavior of some characteristic in the same sample unit over time, accumulated dose of some nutrient or medication. In practice, the structure of data of this nature generally establishes non-linear behaviors in the parameters of interest, since these characterize better the biological reality researched. This situation is favorable to the study of cardiac remodeling (CR) by pressure overload in rats submitted to different sequential calcium maneuvers. As the behavior of CR is not clearly established, the objective of this work is to perform a comparative study on the performance of four models of growth curves in four experimental groups, considering normalized multivariate  $\theta$  standard errors. In addition, the data modeling involves two covariance structures: the homocedastic with the presence of autocorrelation lag 1 and the multiplicative heterocedastic. In the methodological context, the procedure of estimation by maximum likelihood is used with the technique of bootstrap resampling. In addition, simulation techniques are implemented to prove the methodological properties applied. For the comparison between the models, some adjustment quality evaluators are used. It is concluded in the present study that the homocedastic structure with lag 1 autocorrelation for the Brody and Von Bertalanffy models stands out for presenting excellent estimates and good quality of adjustment of the maximum developed stress (TD) as a function of the different levels of calcium doses.

**Keywords:** Cardiac remodeling, Growth Models, Covariance structures and Maximum Likelihood.

# Lista de Figuras

3.1	Esquema experimental . . . . .	11
4.1	Box-plot da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	31
4.2	Histograma do grupo Sham-Norm da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	32
4.3	Histograma do grupo Sham-Hiper da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	33
4.4	Histograma do grupo EAO-Norm da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	33
4.5	Histograma do grupo EAO-Hiper da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	34
4.6	Coefficientes de variação da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	35
4.7	Resíduos ordinários ajustados pelo método dos mínimos quadrados da TD segundo a concentração de cálcio. . . . .	36
4.8	Histogramas dos parâmetros do grupo SHAM-Norm ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	41
4.9	Histogramas dos parâmetros do grupo SHAM-Hiper ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	42
4.10	Histogramas dos parâmetros do grupo EAO-Norm ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	42
4.11	Histogramas dos parâmetros do grupo EAO-Hiper ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	43
4.12	Derivadas dos parâmetros do grupo SHAM ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	44
4.13	Derivadas dos parâmetros do grupo EAO ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	45
4.14	Resíduos do grupo SHAM-Norm ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	46



---

4.15	Curvas da TD média estimada do grupo SHAM-Norm para os diferentes modelos. . . . .	46
4.16	Resíduos do grupo SHAM-Hiper ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	47
4.17	Curvas da TD média estimada do grupo SHAM-Hiper para os diferentes modelos. . . . .	47
4.18	Resíduos do grupo EAo-Norm ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	48
4.19	Curvas da TD média estimada do grupo EAo-Norm para os diferentes modelos. . . . .	48
4.20	Resíduos do grupo EAo-Hiper ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	49
4.21	Curvas da TD média estimada do grupo EAo-Hiper para os diferentes modelos. . . . .	49

# Lista de Tabelas

3.1	Composição dos nutrientes e macronutrientes em relação ao valor calórico total das dietas. . . . .	12
3.2	Modelos de curvas de crescimento. . . . .	14
3.3	Estrutura geral para disposição de dados longitudinais em relação aos momentos das avaliações. . . . .	15
4.1	Medidas descritivas da TD do grupo SHAM de acordo com a dieta e níveis de cálcio. . . . .	30
4.2	Medidas descritivas da TD do grupo EAo de acordo com a dieta e níveis de cálcio. . . . .	30
4.3	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Brody com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2). . . . .	37
4.4	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Gompertz com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2). . . . .	37
4.5	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Logístico com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2). . . . .	38
4.6	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Von Bertalanffy com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2). . . . .	38
4.7	Critério de seleção dos modelos das curvas de crescimento ajustada com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2). . . . .	40
4.8	Sumário dos critérios de seleção com estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1. . . . .	50
4.9	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Brody. . . . .	51

---

4.10	Sumário dos critérios de seleção com estrutura homocedástica com auto-correlação lag 1. . . . .	52
4.11	EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo de Von Bertalanffy. . .	53
A.1	Perfil de ácidos graxos (%) das dietas normolipídicas e hiperlipídicas. . . .	63
D.1	Resultado do teste de assimetria e curtose da TD do grupo SHAM de acordo com a dieta e níveis de cálcio. . . . .	75
D.2	Resultado do teste de assimetria e curtose da TD do grupo EAo de acordo com a dieta e níveis de cálcio. . . . .	76

# Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Revisão de literatura</b>	<b>4</b>
2.1	Modelos de crescimento para dados longitudinais . . . . .	4
<b>3</b>	<b>Metodologia</b>	<b>8</b>
3.1	Plano experimental . . . . .	8
3.1.1	Remodelação cardíaca experimental . . . . .	8
3.1.2	Animais e protocolo experimental . . . . .	10
3.1.3	Composição percentual das dietas normolipídica e hiperlipídica . . .	12
3.1.4	Análise do perfil funcional cardíaco . . . . .	13
3.2	Curvas de crescimento . . . . .	14
3.2.1	Modelo não linear . . . . .	15
3.3	Estrutura de covariância . . . . .	17
3.3.1	Estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1 . . . . .	18
3.3.2	Estrutura heterocedástica multiplicativa . . . . .	20
3.4	Distribuição normal $\theta$ generalizada multivariada . . . . .	22
3.4.1	Decomposição de Cholesky . . . . .	24
3.5	Estimação por máxima verossimilhança . . . . .	25
3.6	Função escore . . . . .	25
3.7	Bootstrap não paramétrico . . . . .	26
3.7.1	Implementação do Algoritmo Bootstrap . . . . .	26
3.8	Seleção do modelo . . . . .	27
<b>4</b>	<b>Resultados da modelagem aplicada</b>	<b>29</b>
4.1	Resultados dos dados reais . . . . .	29
4.1.1	Descrição dos dados . . . . .	29
4.1.2	Estimação dos parâmetros . . . . .	36
4.1.3	Seleção dos modelos . . . . .	40
4.1.4	Estudo dos parâmetros . . . . .	41

---

4.1.5	Análises dos resíduos e curvas estimadas . . . . .	45
4.2	Resultados dos dados simulados . . . . .	50
4.2.1	Estudo dos dados simulados . . . . .	50
4.2.2	Simulação modelo Brody . . . . .	50
4.2.3	Simulação modelo Von Bertalanffy . . . . .	52
<b>5</b>	<b>Conclusão e discussão</b>	<b>54</b>
<b>A</b>	<b>Perfil de ácidos graxos</b>	<b>63</b>
<b>B</b>	<b>Distribuição de Laplace e Normal a partir da normal <math>\theta</math> generalizada</b>	<b>64</b>
<b>C</b>	<b>Cálculo das derivadas</b>	<b>65</b>
<b>D</b>	<b>Teste de assimetria e curtose</b>	<b>75</b>
<b>E</b>	<b>Cálculo das derivadas</b>	<b>77</b>
<b>F</b>	<b>Programas</b>	<b>78</b>
F.1	Matrizes decompostas . . . . .	78
F.2	Estimação dos parâmetros . . . . .	79
F.3	Bootstrap não paramétrico . . . . .	80

# Capítulo 1

## Introdução

Na área da saúde, as anormalidades cardíacas decorrentes do acúmulo de gordura vêm sendo estudadas por meio dos modelos experimentais que induzem obesidade por dietas. Pesquisas mostram que o desequilíbrio energético na obesidade vem acarretando séria disfunção cardíaca. Diante dessa afirmação, estudos experimentais com ratos têm sido largamente empregados na avaliação da relação entre função cardíaca e metabolismo energético na obesidade.

Normalmente, os modelos de crescimentos utilizados na linha de pesquisas de remodelação cardíaca não avaliam a possível presença da variação heterocedástica e/ou a autocorrelação dos dados ao longo do tempo. Nas ciências da saúde e biológicas, são poucas as publicações aplicadas a curvas de crescimento, a dados longitudinais que consideram os pressupostos inerentes a medidas realizadas na mesma unidade experimental. Neste sentido, propõe-se, no presente trabalho, uma nova abordagem para ajuste dos modelos não lineares, substituindo o pressuposto de normalidade dos erros por uma distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada. Essa distribuição inclui casos das distribuições normal e de Laplace, sendo inicialmente utilizada por Goodman and Kotz [1973]. Vale ressaltar que a escolha dessa distribuição se deu pelo fato de sua aplicação ser relevante em diversas áreas de pesquisa e por apresentar resultados robustos nas estimações dos parâmetros. Além disso, sugere-se uma família de distribuições não lineares para modelar as curvas de crescimento para dados longitudinais (Brody, Gompertz, logística e Von Bertalanffy), considerando ainda duas diferentes estruturas de covariâncias (estrutura homocedástica com a presença de autocorrelação *lag 1* e estrutura heterocedástica multiplicativa).

É importante salientar que essa formulação foi utilizada para incorporar possíveis dependências entre as observações no mesmo indivíduo, pois estruturas de regressão não linear fornecem a variação das médias e dos parâmetros de dispersão de acordo com as medidas observadas ao longo do tempo, o que pode conduzir a um rendimento satisfatório aos modelos caso haja grande variabilidade nos dados.

O tema abordado é suficientemente capaz de abranger uma ampla gama de aplicações práticas de diferentes áreas de conhecimento, tendo em vista que é de extrema importância construir modelos que acomodem bem essa dependência entre as observações no indivíduo e a possível heterocedasticidade nos dados.

A motivação do estudo se deu pelo fato de que os modelos de crescimentos utilizados em pesquisas de remodelação cardíaca, existentes na literatura médica, não levam em consideração a presença dos erros normais generalizados multivariados, considerando todas as variações dos indivíduos ao longo do tempo.

A partir de dados coletados, o presente estudo discutiu e analisou respostas experimentais da remodelação cardíaca quando são avaliados parâmetros funcionais mecânicos em ratos submetidos a diferentes manobras sequenciais de cálcio. A apresentação e discussão da metodologia de análise estatística do estudo, foram desenvolvidas com dados provenientes de um experimento realizado pelo Grupo de Pesquisa em Cardiologia Experimental da FMB/UNESP-Botucatu. O experimento consiste na remodelação cardíaca de ratos Wistar, induzidos à estenose aórtica (EAo) supravalvar, que foram submetidos a manobra de cálcio envolvendo vários níveis e diferentes dietas administradas aos animais. O interesse fundamental pontua-se na hipótese de que os modelos não lineares, associados às estruturas probabilísticas e de variabilidade, produzem modelos robustos com respostas consistentes em relação a níveis sequenciais crescentes de cálcio administrados nos animais nas diferentes dietas, evidenciando assim um ganho substancial para o pesquisador na qualidade dos resultados obtidos.

O procedimento de estimação de máxima verossimilhança será utilizado para realizar a inferência dos parâmetros desses modelos e as propriedades da metodologia estatística aplicada são investigadas por meio de testes de simulações. Além disso, critérios de seleção dos modelos foram utilizados para selecionar o que melhor se ajusta ao conjunto de dados.

O texto compreende cinco capítulos, estruturados da seguinte forma: No capítulo 1, apresenta-se a justificativa e os objetivos desse trabalho. No capítulo 2, descreve-se uma breve revisão da literatura. No capítulo 3, apresenta-se a descrição metodológica da construção do plano experimental relativo à linha de pesquisa em remodelação cardíaca em ratos e a descrição do método proposto de estimação de máxima verossimilhança para ajuste dos erros normais generalizados multivariados dos quatro modelos de curvas de crescimento estudados. Adicionalmente, introduzem-se as estruturas de covariância para os vetores dos erros, complementando-se com as análises dos resíduos e os critérios de seleção dos modelos. No capítulo 4, destacam-se as aplicações da metodologia para dados reais, no qual foi avaliada a tensão do desenvolvimento (TD) dos ratos Wistar machos, após o recebimento de doses contínuas de cálcio em duas dietas e os resultados das análises

e avaliação do estudo de simulação. Por fim, as conclusões com base nos resultados obtidos e propostas futuras são apresentadas no capítulo 5.

Todas as análises e gráficos contidos nessa pesquisa foram desenvolvidos no ambiente de programação computacional R Development Core Team [2009] versão 3.3.1, cuja versão encontra-se livre e gratuita em [www.r-project.org/](http://www.r-project.org/)



# Capítulo 2

## Revisão de literatura

Nesta seção, será exibida uma breve revisão bibliográfica de uma série de modelos estatísticos não lineares de grande utilidade na estimação dos parâmetros de crescimento, enfatizando os principais conceitos teóricos utilizados como alicerce para construção dessa pesquisa.

### 2.1 Modelos de crescimento para dados longitudinais

Os estudos de modelos de crescimento para dados longitudinais têm como objetivo descrever como o comportamento da variável resposta é afetado pelo tempo ou dose administrada no mesmo sujeito [Durbán et al., 2005].

Em busca de modelos adequados para a modelagem de dados, muitos autores focam na estrutura de dados. Os modelos polinomiais, por exemplo, são comumente indicados para análise de dados coletados durante um período limitado do processo de crescimento. No entanto, a grande desvantagem desse modelo é que os coeficientes nem sempre permitem uma interpretação biológica ou natural do processo estudado [Kac et al., 2007]. Já os modelos não lineares costumam ser mais flexíveis por fornecerem informações do processo de crescimento dos indivíduos que são facilmente incorporadas e biologicamente interpretáveis. Adicionalmente, fornecem previsões mais confiáveis, pois apresentam baixo número de parâmetros que precisam ser estimados, possibilitando assim uma melhor caracterização da variável resposta [Souza Brandão, 1996].

A análise de curvas de crescimento para dados longitudinais surge de experimentos delineados com medidas repetidas, ou seja, medidas realizadas nas mesmas unidades experimentais ao longo do tempo [Crowder and Hand, 1990]. Os dados são modelados matematicamente de forma a descrever todo o período do acompanhamento experimental, levando em consideração uma hierarquia natural das observações. Essa hierarquia é denominada estrutura multinível, uma vez que as medidas são aninhadas dentro do sujeito

[Hauser et al., 2009].

O procedimento de ajuste destas curvas, envolvendo modelos não lineares, tem sido abordado em vários estudos e em diversas áreas de pesquisa [Paz, 2002]. Nos últimos anos, a utilização das curvas de crescimento com mensurações longitudinais tem sido frequentemente descrita na literatura.

Diniz et al. [2010] utilizaram o modelo de Von Bertalanffy com erros heterocedásticos para descrever o crescimento corporal das galinhas Kubbard. Já Wang and Zuidhof [2004] estimaram os parâmetros de crescimento dos pássaros por meio dos modelos mistos de Gompertz.

Para o ajuste de crescimento da produção de palma de óleo, Khamis et al. [2005] trabalharam na estimação de 14 tipos de modelos não lineares e concluíram que os modelos de Gompertz, Logistic, Log-Logistic, Morgan-Mercer-Flodin and Chapman-Richard são os mais capazes de descrever o fenômeno estudado.

Dentre as funções não lineares, destaca-se o modelo de Chapman-Richards. Esse modelo caracteriza-se por apresentar quatro parâmetros biologicamente interpretáveis, e por ser uma generalização bem conhecida das funções Brody, Von Bertalanffy, Gompertz e Logística. Geralmente, esse modelo fornece uma descrição mais realista de muitos fenômenos. No entanto, é pouco explorado por apresentar diversas dificuldades no procedimento de estimação não-linear [Ghosh and Iquebal, 2011].

O modelo de Gompertz (1825) é caracterizado por ter um crescimento inicial mais lento, sendo muito usado em ciências da saúde para modelar o número de células cancerígenas em tumores sólidos. Além disso, esse modelo também pode ser utilizado para descrever a taxa de mortalidade da população. Já o modelo logístico proposto por Verhulst (1938) é utilizado para descrever crescimentos sigmodais em que o ponto de inflexão está localizado aproximadamente na metade do último valor [Campos, 2011].

Ueda et al. [2003] conduziram um estudo com dados da porcentagem do grau de severidade da doença *Late blight* em quatro variedades de batata (*Solanum tuberosum*), causada por *Phytophthora infestans*, usando a metodologia de modelos não lineares em curvas de crescimento para dados longitudinais, e constataram que o modelo não linear mais adequado foi o que usa uma das parametrizações da função de Gompertz e matriz de covariância de simetria composta.

Em estudos para melhoramento genético, o modelo Brody mostrou-se satisfatório, ajustando-se melhor aos dados do que os outros modelos Ludwig [1977] e Nobre et al. [1987]. Sob o ponto de vista computacional, segundo Brown et al. [1976], o modelo de Brody superestimou os pesos bovinos antes dos seis meses, mas ajustou-se tão bem quanto ao modelo de Richards para os pesos obtidos acima dessa idade.

Veloso et al. [2016] realizaram uma análise de agrupamento para classificar mode-

los de regressão não lineares usados para descrever a curva de crescimento de três genótipos de frangos de corte, e elegeram os modelos logístico, Michaelis-Menten, Michaelis-Menten modificado e Von Bertalanffy como os mais adequados à descrição das curvas de crescimento das seis classes estudadas.

Estudando curvas de crescimento de germinação de semente de café, Sousa et al. [2014] utilizaram os modelos logístico e de Gompertz com variância heterocedástica na germinação de sementes no curso do tempo e autocorrelação entre os resíduos do grupo e concluíram que o modelo de Gompertz com estrutura de erros autorregressivos de primeira ordem como o melhor para descrever o processo germinativo ao longo do tempo.

Capela Veiga et al. [2001] estudaram o modelo de crescimento de Morgan-Mercer-Flodin, empregado para descrição de processos cinéticos do estado sólido e constataram que essa função de crescimento é apropriada a estudo de diversos fenômenos biológicos e químicos, dentre os quais destaca-se a cinética de transformação de fase no estado sólido.

Estudando alguns modelos, para estimação da curva de crescimento de novilhos da raça Hereford, Joel et al. [2005] concluíram que os modelos Gompertz e Von Bertalanffy, ajustados pelos métodos do quadrado médio do resíduo (QMR), quadrados mínimos ponderado generalizado com erros autorregressivos de primeira (QMPG-AR1) e segunda ordens (QMPG-AR2) foram os indicados para descrever o crescimento de novilhos Hereford até os dois anos de idade.

Uma das grandes vantagens dos modelos não lineares é a simplicidade e facilidade na interpretação dos parâmetros, já que em muitas situações são requeridos menos parâmetros dos que nos lineares [Amaral, 2009]. Além disso, os modelos de curvas de crescimento apresentam uma ampla gama de aplicações práticas em diversas áreas de conhecimento. Em geral, uma estrutura de modelo não linear assume que a medida dos erros são independentes, homocedásticos e normalmente distribuídas [Louzada et al., 2015].

No entanto, essa estrutura de modelo normal nem sempre é adequada para a representação de dados que contêm valores extremos ou observações isoladas, o que atualmente conduz a uma consciência generalizada do perigo que representa a ocorrência dos “outliers” [Cysneiros et al., 2010]. Por outro lado, é notável que o expediente usual de assumir a suposição de normalidade e homocedasticidade dos dados, em algumas situações torna o procedimento de ajuste mais simples, especialmente nas áreas das ciências da saúde e biológicas. Não se verificar esses pressupostos para o uso dessa distribuição por impropriedade de aceitação, pode acarretar sérios problemas na precisão dessas estimativas, pois, na prática, a presença de heterocedasticidade em conjuntos de dados de crescimento não é incomum e conduz a uma ampla discussão na literatura estatística [Diniz et al., 2010].

Em geral, no processo de estimação de curvas de crescimento, algumas pressu-

posições estatísticas importantes não são levadas em consideração, tais como a heterogeneidade das variâncias dos pesos corporais, pois sabe-se que à medida que a idade aumenta, a variância dos pesos corporais também aumenta, gerando uma autocorrelação entre os resíduos no ajuste do modelo, tendo em vista que os dados são tomados longitudinalmente [Mazzini, 2001]. Para detectar heterocedasticidade, Lin and Wei [2003] apresentaram métodos gráficos, caracterizaram vários tipos de heterogeneidade de variância e forneceram várias técnicas de diagnóstico no âmbito de modelos não-linear.

Em relação à seleção desses modelos, de acordo com Tedeschi et al. [2000], a escolha da melhor função pela análise de resíduos da variância não é a melhor opção para dados do tipo longitudinais, pois estes apresentam erros correlacionados entre as observações de um período para outro. Esses erros são ocasionados, principalmente, pelas flutuações, devido a vários fatores que não são necessariamente refletidos na curva.

De acordo com a breve revisão bibliográfica, pode-se notar que, apesar desses modelos para curvas de crescimento serem vastamente utilizados na literatura, não foram encontrados registros da utilização desses modelos em dados longitudinais na área de estudos experimentais em remodelação cardíaca. Nesse enfoque, a construção desse trabalho se deu pelo fato da real importância do uso dos modelos não lineares na estimação do parâmetro funcional mecânico da tensão em desenvolvimento (TD) em experimentos de remodelação cardíaca em ratos, considerando efeitos residuais das mensurações com distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada.

# Capítulo 3

## Metodologia

A ideia central desse capítulo é descrever a metodologia proposta para o estudo de crescimento da tensão desenvolvida (TD), após o recebimento sequenciais da manobra de cálcio em animais submetidos à cirurgia de estenose aórtica supravalvar, no qual envolveu o método de estimação de máxima verossimilhança para ajustar os quatro modelos de curvas de crescimento para dados longitudinais. Ademais, o método sugere ainda o uso dos erros normais  $\theta$  generalizados multivariados com duas diferentes estruturas de covariância.

### 3.1 Plano experimental

Nesta seção, apresentam-se resumidamente alguns conceitos essenciais usados na construção de um plano experimental relativo à linha de pesquisa em remodelação cardíaca em ratos.

#### 3.1.1 Remodelação cardíaca experimental

A “Remodelação” qualifica as mudanças que resultam no rearranjo de estruturas normalmente existentes. Embora a remodelação não necessariamente defina uma condição patológica, a remodelação do miocárdio é geralmente restrita a doenças [Swynghedauw, 1999]. Nesse sentido, entende-se por remodelação cardíaca o conjunto de alterações das expressões gênicas, moleculares, celulares e intersticiais cardíacas, que vão se manifestar clinicamente por alterações no tamanho, massa, geometria e função do coração em resposta a determinada agressão [Cohn et al., 2000]. Trata-se de fenômeno que faz parte do desenvolvimento natural do coração até a vida adulta.

Conforme Azevedo et al. [2015], o diagnóstico clínico da remodelação é documentado pelas mudanças nessas morfologias, alterações no diâmetro da cavidade, massa (hipertrofia e atrofia), geometria (espessura da parede e na forma do coração), áreas

com cicatriz (caracteristicamente após o infarto), fibrose e infiltrado inflamatório (como nas miocardites). Exames como o ecocardiograma, a ventriculografia e, recentemente, a ressonância nuclear magnética são comumente utilizados para detectar essas mudanças [Anand et al., 2002]. Como já descrito, a remodelação cardíaca ocorre em resposta a determinadas agressões. Assim, Bregagnollo et al. [2007] avaliaram a contribuição relativa da remodelação geométrica do ventrículo esquerdo e das alterações morfológicas e funcionais do miocárdio, em ratos por meio do modelo de indução da estenose aórtica supra-avalvar. Esse modelo experimental para remodelação cardíaca por sobrecarga pressórica em ratos é um mecanismo que induz à hipertrofia ventricular gradual, evoluindo para disfunção ventricular. A sobrecarga pressórica inicialmente é leve, acentuando-se progressivamente à medida que os animais crescem, assemelhando-se, parcialmente à estenose aórtica no homem [Mestrinel, 2003]. Para simular essa situação, insere-se um clipe na aorta ascendente e a estenose se desenvolve de maneira proporcional ao crescimento corporal do animal [Moreira, 2006].

Segundo Campos [2014], as vantagens deste modelo experimental são a ausência de severas lesões anatômicas no miocárdio e baixo custo para manutenção dos animais, devido ao curto período necessário para o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda e insuficiência cardíaca.

No contexto metabólico, em diversos estudos, o perfil nutricional relacionado a distúrbio cardiovascular em ratos submetidos à dieta foi mostrado como comorbidade comum a modelos experimentais de obesidade induzida por dieta hipercalórica [Martins et al., 2015].

Estudos epidemiológicos indicam que a obesidade é uma importante comorbidade para pacientes com doenças do coração, podendo levar facilmente a um infarto do miocárdio [Thakker et al., 2006]. Além disso é considerada uma epidemia global, sendo um grande problema de saúde pública que vem afetando um número significativo da população mundial.

Sob esse aspecto, vários estudos experimentais vêm utilizando vastamente o método de estenose aórtica supra-avalvar em remodelação cardíaca gradual do ventrículo esquerdo e administração de diferentes dietas experimentais com as alterações no trânsito de  $Ca^{+2}$  intracelular. Entretanto, além da alteração no trânsito de cálcio, outros fatores podem também contribuir para a disfunção no modelo experimental de estenose aórtica, tendo em vista que os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela depressão da função cardíaca não estão totalmente esclarecidos. De acordo com Boluyt et al. [1995], Cicogna et al. [2000] e Sugizaki et al. [2009] as depressões da função cardíaca também podem ocorrer nas proteínas contráteis, na matriz extracelular, na modulação autonômica, na necrose ou apoptose dos miócitos e no déficit de oxigênio ou de substrato energético.

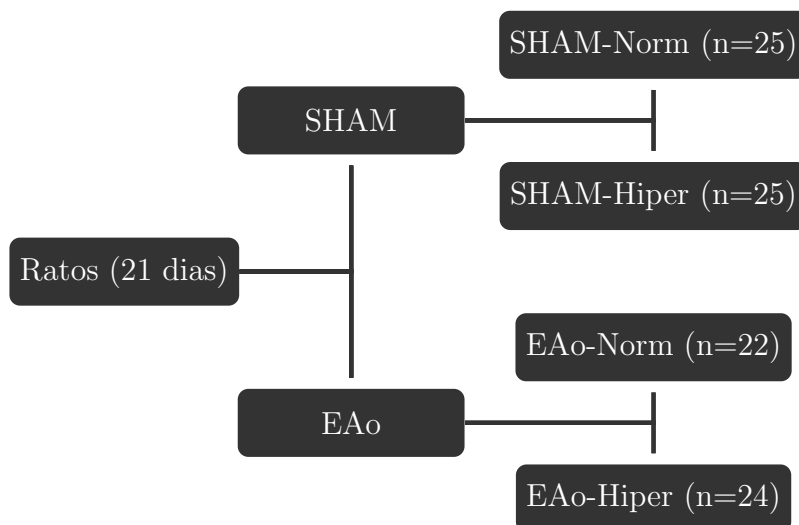
O grau da disfunção cardíaca causada pela estenose aórtica e alterações no trânsito de cálcio podem apresentar-se em diferente cenários.

Nesse enfoque, utilizar técnicas estatísticas inovadoras que incorporem possíveis dependências entre as observações no mesmo indivíduo é de suma importância. Tendo em vista que as estruturas de regressão não linear convencionais, propostas na literatura, não levam em consideração as possíveis variabilidades e/ou autocorrelação dos dados de acordo com as mensurações feitas nos indivíduos ao longo do tempo, tornando-se necessário que procedimentos estatísticos mais apurados e robustos sejam utilizados em tais situações.

### 3.1.2 Animais e protocolo experimental

A amostra foi composta por 96 ratos da linhagem Wistar, machos, com 21 dias de idade ( $\sim 150g$ ), originários do Biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu (SP) - UNESP, que foram divididos aleatoriamente em dois grupos: Controle Operado, também denominado como SHAM e o grupo da Estenose Aórtica Supraaórtica (EAO). Os animais foram submetidos aos procedimentos experimentais de cirurgia prévia de forma similar nos dois grupos. No entanto, o clipe metálico de aço inoxidável, com 0,6 mm de diâmetro interno inserido na aorta ascendente para a indução da estenose aórtica supraaórtica foi implantado apenas nos animais pertencentes ao grupo EAO.

Após os procedimentos cirúrgicos, os ratos foram acomodados para recuperação, em caixas plásticas individuais de polipropileno, com tampas de arame cromado, forradas com maravalha de Pinus esterilizada. As caixas foram mantidas em temperatura ambiente controlada (22 a 26°C), umidade controlada (50 a 60%) e ciclos de luminosidade de 12 horas com livre acesso à ração e água aferidos semanalmente. É importante ressaltar que, durante o processo cirúrgico, há muitas perdas de animais. Diante disso, para que o tamanho amostral fosse atingido com êxito, as possíveis mortalidades foram previamente consideradas. Seis semanas após o ato cirúrgico, um esquema de dois fatores foi montado aleatoriamente dentro dos grupos para o recebimento de duas dietas experimentais: a dieta normolipídica e a hiperlipídica (rica em ácidos graxos saturados), formando assim quatro subgrupos distintos denominados como: (SHAM-Norm, n=25; SHAM-Hiper, n=25; EAO-Norm, n=22 e EAO-Hiper, n=24), como mostra a Figura 3.1.



**Figura 3.1: Esquema experimental**

As dietas foram administradas durante 12 semanas, após a 6<sup>a</sup> semana da realização das cirurgias, isto é, totalizando o período experimental em 18 semanas. Além disso, exames cardiológicos compostos por 33 variáveis foram previamente realizados com intuito de avaliar a estrutura e o desempenho cardíaco do animal, já que as anormalidades nutricionais não são incomuns na prática, e em estudos experimentais biológicos a homogeneidade da resposta não está assegurada mesmo quando mantidas as condições laboratoriais semelhantes.

Diante do exposto, características comuns podem manifestar-se em ratos submetidos às diferentes dietas, ou seja animais submetidos à ração normolipídica poderiam ser classificados como controle, quando na verdade trazem características de animais obesos, conduzindo assim a um grave erro de classificação [Martins et al., 2015]. Neste sentido, foi realizada uma avaliação visual e por meio das experiências práticas dos pesquisadores que procuraram identificar sinais que evidenciassem a homogeneização entre os ratos.

Campos [2014] destaca que a escolha da administração das dietas hiperlipídicas, após a 6<sup>a</sup> semana de EAo, se deu em decorrência de alguns estudos mostrarem que esses animais apresentam hipertrofia ventricular esquerda, disfunção diastólica e melhoria da função sistólica do ventrículo esquerdo. O experimento foi criado em decorrência do fato de que quanto maior a oferta de energia proveniente dos ácidos graxos saturados, melhor será a restauração do equilíbrio energético miocárdico, atenuando o processo de remodelação patológica. Isto porque a ausência do déficit energético suaviza a hipertrofia no miocárdio, retardando o aparecimento da disfunção sistólica e ameniza a disfunção diastólica ventricular esquerda em ratos com sobrecarga pressórica.

Ao final da 18<sup>a</sup> semana, procurou-se identificar sinais de insuficiência cardíaca, sendo considerado critério de exclusão do protocolo experimental, a presença de taquipneia



associada a um dos seguintes sinais: edema, ascite, derrame pleuropericárdico, trombo em átrio esquerdo (AE) e hipertrofia do ventrículo direito (VD) [Mendes et al., 2010].

### 3.1.3 Composição percentual das dietas normolipídica e hiperlipídica

A composição das dietas manipuladas foi desenvolvida de acordo com o tratamento de interesse. Segundo Vileigas [2015], o desenvolvimento de dietas é resultante da alteração na quantidade, no tipo dos ingredientes e/ou por adição de fármacos.

As rações desenvolvidas para esse experimento foram compostas pelos seguintes ingredientes: farelo e casca de soja, milho, dextrina, óleo de soja e palmiste e premix vitamínico e mineral.

Para o estudo em destaque, foram desenvolvidas dietas normolipídicas e hiperlipídicas com predomínio de ácidos graxos saturados, acompanhadas da mesma quantidade de carboidratos. O valor calórico total das dietas em relação à composição de nutrientes e a distribuição dos macronutrientes estão apresentados conforme a Tabela (3.1).

Tabela 3.1: Composição dos nutrientes e macronutrientes em relação ao valor calórico total das dietas.

Componentes	Dietas	
	Normolipídica	Hiperlipídica
Proteína	24 (31,0)	18 (18,7)
Carboidrato	40 (51,6)	40 (41,6)
Gordura	6 (17,4)	17 (39,7)
Fibras	12	9
Outros*	18	16
Calorias (kcal/g)	3,10	3,85
Ácidos graxos saturados	61,52	64,81
Ácidos graxos insaturados	38,48	35,19

\*Outros: umidade, vitaminas e minerais.

Dentro das dietas, existem dois diferentes tipos de gordura: a gordura saturada e insaturada. A utilização dessas gorduras se deu pelo fato de que a administração de ácidos graxos em animais submetidos à cirurgia de estenose aórtica, com dieta hiperlipídica, atenua a queda do desempenho do ventrículo esquerdo [Campos, 2010].

O perfil nutricional dos ácidos graxos de acordo com cada tipo de dieta encontra-se descrito na Tabela (A.1) no Apêndice A.

O modelo da dieta experimental, rica em gordura, contendo ração animal em pó Agrocere<sup>®</sup> (Rio Claro, SP, Brasil) foi elaborado no laboratório Experimental de

Músculo Papilar Isolado do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP [Nascimento et al., 2011]. Todos os procedimentos foram realizados em acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* e aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu (Protocolo FMB-PE-7/2014), estando em conformidade com regimentos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) [Freire et al., 2014].

### 3.1.4 Análise do perfil funcional cardíaco

Com a finalidade de detectar alterações cardíacas, foi realizada uma análise estrutural e funcional cardíaca *in vivo* por meio do ecocardiograma. O exame do ecocardiograma é largamente aceito por oferecer importantes informações sobre desempenho cardíaco dos roedores, e por ser uma opção segura, indolor, não invasiva para o estudo da função ventricular [Tanaka et al., 1996].

Neste estudo, o exame foi realizado na 6<sup>a</sup> e 18<sup>a</sup> semanas, após a indução de EAO. A realização do ecocardiograma, após a 6<sup>a</sup> semana, teve como principal objetivo direcionar a formação de grupos mais homogêneos. Já, na 18<sup>a</sup> semana de acompanhamento, o ecocardiograma foi realizado para a determinação da massa do ventrículo esquerdo. De acordo com Cantor et al. [2005], o uso do ecocardiograma, apesar de ser largamente empregado, pode superestimar os valores determinados pós-sacrifício.

A partir da decapitação do roedor, após a anestesia com dose quase letal de pentobarbital sódico, 50 mg/kg/ip procedeu-se o estudo funcional do músculo papilar isolado do ventrículo esquerdo.

Em seguida foi realizada a toracotomia mediana, na qual os corações foram rapidamente removidos e colocados em solução de Krebs-Henseleit, mantida a uma temperatura de 28°C, previamente oxigenada durante 10 minutos com 95% de oxigênio (O<sub>2</sub>) e 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Os corações foram retirados da solução depois de aproximadamente um minuto, e logo em seguida o ventrículo direito foi cuidadosamente dissecado e dividido com a finalidade de consentir a exposição apropriada dos dois músculos papilares do ventrículo esquerdo. Adicionalmente, para evitar a lesão da extremidade dos músculos papilares, foram mantidos nas suas extremidades segmentos da parede ventricular presos a anéis de aço inoxidável com diâmetro interno medindo entre 3,8 e 4,2 mm. A transferência para câmara de vidro, contendo a mesma solução de Krebs-Henseleit, foi feita rapidamente após a realização desse procedimento.

Os registros das variáveis foram iniciados após o emprego de técnicas para manter a contração isométrica do músculo papilar estável durante 15 minutos. Nesse momento, foram utilizados como critério de exclusão do experimento os músculos papilares dissecados inadequadamente ou que apresentarem o comportamento funcional fora do padrão de

normalidade.

Ao final desse processo experimental, a função do ventrículo esquerdo foi analisada a partir de curvas obtidas durante uma contração isométrica avaliadas por quatro parâmetros funcionais mecânicos: tensão desenvolvida ( $TD, g/mm^2$ ), tensão de repouso ( $TR, g/mm^2$ ), velocidade máxima de elevação da tensão desenvolvida ( $+dT/dt, g/mm^2/s$ ) e velocidade máxima de decréscimo da tensão desenvolvida ( $-dT/dt, g/mm^2/s$ ). No entanto, para esse estudo, utilizam-se apenas as respostas da tensão desenvolvida ( $TD, g/mm^2$ ) como desfecho.

A análise do comportamento da curva da tensão desenvolvida (TD) obtida durante o experimento, permite compreender a rigidez miocárdica do músculo papilar registrada em um sistema de aquisição de dados computadorizados (AcqKnowledge® MP100, Biopac Systems, Inc, Santa Barbara, CA, USA). Este sistema determina os valores do parâmetro mecânico de interesse para as administrações sequenciais de concentração de cálcio ( $Ca^{+2}$ ), no qual resultou em sete doses  $D_x = (0, 5; 1, 0; 1, 5; 2, 0; 2, 5; 3, 0; 3, 5)$  mM, administradas em intervalos de 5 minutos entre cada adição.

Essa disponibilidade, em quantidades elevadas na administração sequencial de cálcio é justificada, pois permite avaliar as condições funcionais miocárdicas do ventrículo esquerdo, intensificando assim, a magnitude do desempenho do músculo cardíaco.

## 3.2 Curvas de crescimento

Para modelar esse fenômeno, nos dados da pesquisa de modelação cardíaca em ratos induzidos à estenose aórtica, propõem-se quatro modelos para curvas de crescimento vastamente utilizados na literatura. (Tabela 3.2).

Tabela 3.2: Modelos de curvas de crescimento.

Autor	Modelo ( $y_{id}$ )
Brody (BY)	$a(1 - ce^{-kx_d}) + \varepsilon_{id}$
Gompertz (GZ)	$ae^{ce^{(-kx_d)}} + \varepsilon_{id}$
Logístico (LO)	$a(1 + ce^{-kx_d})^{-1} + \varepsilon_{id}$
Von Bertalanffy (VB)	$a(1 - ce^{-kx_d})^3 + \varepsilon_{id}$

Em que,  $y_{id}$  representa a resposta média da  $i$ -ésima unidade experimental avaliada na  $d$ -ésima dose administrada, com  $i = 1, 2, \dots, n$ ,  $d = 1, 2, \dots, D$  e  $x_d \in D_x$ . O vetor de erros  $\varepsilon_{\mathbf{i}} = (\varepsilon_{i1}, \varepsilon_{i2} \dots \varepsilon_{iD})'$  de ordem  $D \times 1$ , distribui-se com média zero e matriz de variância-covariância especificada. Todas as funções apresentam três parâmetros

biologicamente interpretáveis,  $a$  é o parâmetro que representa a tensão assintótica ou o valor que a tensão em desenvolvimento se estabiliza,  $c$  é um parâmetro que está relacionado com a tensão inicial, indicando a proporção do crescimento assintótico a ser ganho após a execução do experimento e  $k$  é a taxa de crescimento da variável de interesse que determina a eficiência do crescimento da TD.

### 3.2.1 Modelo não linear

De maneira geral, os modelos não lineares da resposta média ( $y_{id}$ ) da tensão desenvolvida (TD) associadas as doses  $d$  por meio da função  $\mathbf{h}(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta})$ , podem ser expressos usando a seguinte forma funcional:

$$y_{id} = h(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta}) + \varepsilon_{id}, \quad (3.1)$$

em que  $\boldsymbol{\beta} = (a, c, k)$  é o vetor de parâmetros desconhecidos.

A estrutura geral de um conjunto multivariado de dados experimentais para quatro grupos de animais com observações realizadas sucessivamente ao logo das sete doses administradas, pode ser descrita conforme a Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Estrutura geral para disposição de dados longitudinais em relação aos momentos das avaliações.

Grupo	Unidade Amostral	Doses ( $D_x$ )				Vetor
		$d_{x_1}$	$d_{x_2}$	$\dots$	$d_{x_D}$	
$G_1$	1	$y_{111}$	$y_{112}$	$\dots$	$y_{11D}$	$\mathbf{Y}_{11}$
	2	$y_{121}$	$y_{122}$	$\dots$	$y_{12D}$	$\mathbf{Y}_{12}$
	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
	$n_1$	$y_{1n_11}$	$y_{1n_12}$	$\dots$	$y_{1n_1D}$	$\mathbf{Y}_{1n_1}$
$G_2$	1	$y_{211}$	$y_{212}$	$\dots$	$y_{21D}$	$\mathbf{Y}_{21}$
	2	$y_{212}$	$y_{222}$	$\dots$	$y_{22D}$	$\mathbf{Y}_{22}$
	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
	$n_2$	$y_{2n_21}$	$y_{2n_22}$	$\dots$	$y_{2n_2D}$	$\mathbf{Y}_{2n_2}$
$G_3$	1	$y_{311}$	$y_{312}$	$\dots$	$y_{31D}$	$\mathbf{Y}_{31}$
	2	$y_{321}$	$y_{322}$	$\dots$	$y_{32D}$	$\mathbf{Y}_{32}$
	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
	$n_3$	$y_{3n_31}$	$y_{3n_32}$	$\dots$	$y_{3n_3D}$	$\mathbf{Y}_{3n_3}$
$G_4$	1	$y_{411}$	$y_{412}$	$\dots$	$y_{41D}$	$\mathbf{Y}_{41}$
	2	$y_{421}$	$y_{422}$	$\dots$	$y_{42D}$	$\mathbf{Y}_{42}$
	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
	$n_4$	$y_{4n_41}$	$y_{4n_42}$	$\dots$	$y_{4n_4D}$	$\mathbf{Y}_{4n_4}$

Cada vetor  $\mathbf{y}_{gi}$  de  $D$  componentes (doses) representa as respostas longitudinais da TD para o  $i$ -ésimo indivíduo  $i = 1, \dots, n_g$  do  $g$ -ésimo grupo  $g = 1, 2, 3, 4$

Torna-se importante descrever que, para o procedimento de ajuste dos modelos, o índice  $g$  referente aos grupos será omitido, tendo em vista que os modelos serão ajustados de forma independente por grupo. Assim, pode-se descrever o modelo para cada indivíduo  $i$ , de qualquer um dos quatros grupos, como segue:

$$\begin{pmatrix} y_{i1} \\ y_{i2} \\ \vdots \\ y_{iD} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} h(x_1, \boldsymbol{\beta}) \\ h(x_2, \boldsymbol{\beta}) \\ \vdots \\ h(x_D, \boldsymbol{\beta}) \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \varepsilon_{i1} \\ \varepsilon_{i2} \\ \vdots \\ \varepsilon_{iD} \end{pmatrix},$$

$$\mathbf{y}_i = \mathbf{h}(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta}) + \boldsymbol{\varepsilon}_i, \quad (3.2)$$

Em que  $E(\boldsymbol{\varepsilon}_i) = \mathbf{0}$  e  $cov(\boldsymbol{\varepsilon}_i) = \boldsymbol{\zeta}_{D \times D}$

Um modelo é dito não linear quando uma das derivadas parciais de  $\mathbf{h}(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta})$  em relação aos parâmetros, depende de pelo menos um dos parâmetros desse modelo [Bates and Watts, 1988], isto é, os dados observados são modelados por uma função que é não linear em seus parâmetros [Ratkowsky, 1990].

### 3.3 Estrutura de covariância

A estrutura da matriz de covariância dos erros para dados longitudinais apresenta alta variação em relação aos dados observados ao longo do tempo. Diversos autores simplificam a estrutura de análise dos dados não levando em consideração a importância da estrutura da matriz de covariância dos erros. No entanto, é importante ressaltar que desprezar essa correlação pode acarretar em relevantes problemas de estimação dos parâmetros, haja vista que as análises de dados longitudinais dependem das condições dessas matrizes [Malheiros, 1999].

Como não se conhece o tipo de estrutura que explica o fenômeno de crescimento, serão consideradas, no presente estudo, duas diferentes estruturas de covariância para os vetores dos erros: a estrutura de covariâncias homocedásticas com a presença de autocorrelação *lag 1* e a heterocedástica com estrutura multiplicativa. Assim, para essas duas estruturas as matrizes de covariância são expressas a seguir:

### 3.3.1 Estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1

A matriz  $\Sigma_{(D \times D)}$  abaixo, apresenta uma estrutura na qual as variâncias são homogêneas e as covariâncias decrescem, pois a medida que a dose aumenta as correlações diminuem exponencialmente. Assim tem-se que

$$\Sigma = \sigma^2 \begin{pmatrix} 1 & \rho & \rho^2 & \dots & \rho^{D-2} & \rho^{D-1} \\ \rho & 1 & \rho & \dots & \rho^{D-3} & \rho^{D-2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \rho^{D-1} & \rho^{D-2} & \rho^{D-3} & \dots & \rho & 1 \end{pmatrix}.$$

em que  $\rho$  é o coeficiente de correlação entre os dois períodos quaisquer consecutivos e deve satisfazer a condição de  $|\rho| < 1$ .

**Considere o modelo:**  $y_{id} = h(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta}) + \varepsilon_{id}$

$\boldsymbol{\varepsilon}_i = (\varepsilon_{i1}, \varepsilon_{i2} \dots \varepsilon_{iD})$ , com  $i = 1, 2, \dots, n$ .

$\boldsymbol{\varepsilon}_i \sim NG(\mathbf{0}, \Sigma, \theta)$

A estrutura de covariância dos erros de forma genérica para qualquer indivíduo é dada por:

$$\varepsilon_d = \phi \varepsilon_{d-1} + a_d, \quad (3.3)$$

$a_d \sim NG(0, \sigma_a^2, \theta)$  e  $|\phi| < 1$ ,

em que  $\varepsilon_d$  é um processo estocástico que estabelece uma dependência linear sobre o primeiro retardo da variável e  $a_d$  assume distribuição normal generalizada.

Sabe-se, também, que uma série segue um processo autoregressivo de primeira ordem se for gerada por (3.3) [Chan, 2002].

Assim, a autocovariância da série  $\varepsilon_d$  é definida por:

$$\gamma_1 = Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1})$$

Como a  $Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1}) = E[(\varepsilon_d - E(\varepsilon_d))(\varepsilon_{d-1} - E(\varepsilon_{d-1}))]$  e sabendo-se que :

$E(a_d) = 0$ ;  $E(\varepsilon_d) = 0$  e  $a_d$  e  $\varepsilon_d$  são independentes, tem-se

$$Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1}) = E(\varepsilon_d \varepsilon_{d-1}).$$

Logo,

$$\gamma_1 = Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1}) = E(\varepsilon_d \varepsilon_{d-1})$$

Admitindo,  $\gamma_0 = Var(\varepsilon_d)$ , ou seja a variância do processo assim como a média também é constante [Ehlers, 2007].

Substituindo (3.3) na  $E(\varepsilon_d \varepsilon_{d-1})$ , tem-se:

$$\gamma_1 = E[(\phi \varepsilon_{d-1} + a_d) \varepsilon_{d-1}]$$

$$\gamma_1 = \phi E(\varepsilon_{d-1}^2) + \underbrace{E(a_d \varepsilon_{d-1})}_0$$

Sabe-se que:

$$Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1}) = E[(\varepsilon_d - E(\varepsilon_d))(\varepsilon_{d-1} - E(\varepsilon_{d-1}))], \text{ ou equivalentemente,}$$

$$Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1}) = E[\varepsilon_d \varepsilon_{d-1} - \varepsilon_d E(\varepsilon_{d-1}) - E(\varepsilon_d) \varepsilon_{d-1} + E(\varepsilon_d) E(\varepsilon_{d-1})]$$

Fazendo  $\varepsilon_d = \varepsilon_{d-1}$ , tem-se:

$$Cov(\varepsilon_{d-1}, \varepsilon_{d-1}) = E[\varepsilon_{d-1}^2 - 2\varepsilon_{d-1}E(\varepsilon_{d-1}) + (E(\varepsilon_{d-1}))^2]$$

$$Cov(\varepsilon_{d-1}, \varepsilon_{d-1}) = E[(\varepsilon_{d-1}^2 - \underbrace{(E(\varepsilon_{d-1}))^2}_0)] = Var(\varepsilon_d)$$

logo,

$$E(\varepsilon_{d-1}^2) = Var(\varepsilon_d) = \gamma_0$$

Escrevendo na forma matricial

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \gamma_0 & \gamma_1 & \gamma_2 & \cdots & \gamma_{d-1} \\ \gamma_1 & \gamma_0 & \gamma_1 & \cdots & \gamma_{d-2} \\ \vdots & \vdots & \gamma_0 & \vdots & \vdots \\ \gamma_{d-1} & \gamma_{d-2} & \gamma_{d-3} & \cdots & \gamma_0 \end{pmatrix}$$

A relação estatística entre  $\varepsilon_d$  e  $\varepsilon_{d-1}$  é

$\gamma_1 = \phi \gamma_0 \Rightarrow \frac{\gamma_1}{\gamma_0} = \frac{Cov(\varepsilon_d, \varepsilon_{d-1})}{Var(\varepsilon_d)} = \rho_1$ , que é a função de autocorrelação dos  $\varepsilon_d$ 's.

Observe que a covariância de  $\varepsilon_d$  e  $\varepsilon_{d-j}$  é a mesma que  $\varepsilon_{d-1}$  e  $\varepsilon_{d-j-1}$  isto é, depende somente da separação dos  $\varepsilon$ 's e não das doses  $d$  [Cochrane, 2005].

Dividindo a função de autocovariância pela variância do processo temos:

$$\Sigma = \gamma_0 \begin{pmatrix} 1 & \frac{\gamma_1}{\gamma_0} & \frac{\gamma_2}{\gamma_0} & \cdots & \frac{\gamma_{d-1}}{\gamma_0} \\ \frac{\gamma_1}{\gamma_0} & 1 & \frac{\gamma_1}{\gamma_0} & \cdots & \frac{\gamma_{d-2}}{\gamma_0} \\ \vdots & \vdots & 1 & \vdots & \vdots \\ \frac{\gamma_{d-1}}{\gamma_0} & \frac{\gamma_{d-2}}{\gamma_0} & \frac{\gamma_{d-3}}{\gamma_0} & \cdots & 1 \end{pmatrix}$$

Como  $\gamma_1 = \phi E(\varepsilon_{d-1}^2)$  e  $E(\varepsilon_{d-1}^2) = \gamma_0$ , tem-se que:

$$\gamma_1 = \phi \gamma_0 \Rightarrow \underbrace{\frac{\gamma_1}{\gamma_0}}_{\rho_1} = \phi$$

tomando-se  $\frac{\gamma_0}{\gamma_0} = 1 = \rho_0$ , as seguintes soluções se configuram.



$$\begin{aligned}
\rho_0 &= 1 \\
\rho_1 &= \phi \\
\rho_2 &= \phi\rho_1 = \phi^2 \\
\rho_3 &= \phi\rho_2 = \phi^3 \\
&\vdots = \vdots = \vdots \\
\rho_{D-1} &= \phi\rho_{D-2} = \phi^D,
\end{aligned}$$

em que  $\rho_d$  é o estimador das autocorrelações de ordem D. Portanto a função de autocorrelação tende a zero com uma rapidez que depende de  $\phi$ , isto é, quanto maior seja, menor será o decrescimento. Neste caso a condição de estacionaridade garante que a função de autocorrelação converge [Davila, 2015].

Reescrevendo a matriz  $\Sigma$

$$\Sigma = \gamma_0 \begin{pmatrix} 1 & \rho_1 & \rho_2 & \cdots & \rho_{d-1} \\ \rho_1 & 1 & \rho_1 & \cdots & \rho_{d-2} \\ \rho_2 & \rho_1 & 1 & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \rho_{d-1} & \rho_{d-2} & \rho_{d-3} & \cdots & 1 \end{pmatrix}.$$

Como  $\rho_k = \frac{\gamma_k}{\gamma_0} = \rho^k$  e  $\gamma_0 = \sigma^2$ , tem-se:

$$\Sigma = \sigma^2 \begin{pmatrix} 1 & \rho^1 & \rho^2 & \cdots & \rho^{D-1} \\ \rho^1 & 1 & \rho^1 & \cdots & \rho^{D-2} \\ \rho^2 & \rho^1 & 1 & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \rho^{D-1} & \rho^{D-2} & \rho^{D-3} & \cdots & 1 \end{pmatrix},$$

em que  $\Sigma$  é a matriz com estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

### 3.3.2 Estrutura heterocedástica multiplicativa

Em muitos casos, as variâncias entre os erros de um modelo são inconstantes. Porém, por meio de uma transformação na variável resposta, muitas vezes é possível eliminar a heteroscedasticidade nos dados. No entanto, a realização de tais transformações pode se tornar inconveniente por continuar a não atender tais pressupostos [Glejser, 1969].

Diante disso, considerar o ajuste do modelo levando em consideração a heteroscedasticidade dos dados é mais indicado.

Métodos gráficos e não gráficos podem ser utilizados para checar a heteroscedasticidade dos dados [Goldfeld et al., 1973]. Cook and Weissberg [1983] promoveram melhorias no teste de diagnóstico de heteroscedasticidade baseados na função de variância e complementaram o teste de diagnóstico com a metodologia gráfica. Já Lin and Wei [2003], caracterizaram diversos tipos de heterogeneidade da variância aumentando assim as técnicas de diagnóstico nos modelos não lineares.

Quando a variância entre os erros é proporcional a uma potência desconhecida da variável explicativa, tem-se a matriz com estrutura heteroscedasticidade multiplicativa. A estrutura que será adotada no presente estudo foi tratada por Harvey [1976] e é expressa da seguinte forma:

$$\sigma_d^2 = \sigma^2 x_d^\lambda, \quad (3.4)$$

em que  $\sigma_d^2$  é o parâmetro relativo a todas as variâncias dos erros,  $\lambda$  é o parâmetro desconhecido, que determina o grau de heteroscedasticidade e  $\sigma^2$  representa a variância dos erros se  $\lambda = 0$ .

**Considere o modelo:**  $y_{id} = h(\mathbf{x}_d, \boldsymbol{\beta}) + \varepsilon_{id}$

em que  $E(\varepsilon_d) = 0$  e  $E(\varepsilon_d \varepsilon_{d'}') = Cov(\varepsilon_d \varepsilon_{d'}') = 0$  para  $d \neq d'$

De (3.4) tem-se que  $Var(\varepsilon_d) = \sigma_d^2 = \exp(z_d \alpha)$  para  $d = d'$ ,

em que  $z_d$  são as variáveis explicativas e  $\alpha$  o vetor dos parâmetros desconhecidos.

Fazendo  $z_d' = (1, \log x_d)$  e  $\alpha = (\log \sigma^2, \lambda)'$ , temos:

$$z_d \alpha = \begin{pmatrix} 1 & \log x_d \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \log \sigma^2 \\ \lambda \end{pmatrix} = \log \sigma^2 + \lambda \log x_d = \log \sigma^2 x_d^\lambda$$

Então,

$$\sigma_d^2 = \sigma^2 x_d^\lambda = \exp(z_d \alpha) \quad (3.5)$$

Sob estas considerações, (3.5) constitui o caso da heteroscedasticidade multiplicativa. Esta expressão indica que a variância de  $\varepsilon_d$  depende de uma forma multiplicativa sobre as variáveis explicativas  $z_d$ .

De forma equivalente, tem-se:

$$\Omega = \sigma^2 \begin{pmatrix} x_1 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & x_2^\lambda & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & x_{(D-1)}^\lambda & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & 0 & x_D^\lambda \end{pmatrix} = \text{diag}(\sigma^2 \mathbf{x}_d^\lambda),$$

com  $x_d \in D_x$ , definindo  $\Omega$  como a matriz com estrutura heterocedasticidade multiplicativa.

### 3.4 Distribuição normal $\theta$ generalizada multivariada

Goodman and Kotz [1973] introduziram uma nova família de distribuição contínua multivariada, ilustrando suas propriedades básicas incluindo a técnica de estimação dos parâmetros por meio do método de máxima verossimilhança. A forma univariada canônica foi desenvolvida por Box and Tiao [1962] e é comumente utilizada nas análises bayesianas sendo considerada uma ferramenta valiosa por oferecer alternativa flexível e estimação robusta [Tiao and Lund, 1970].

A escolha desse modelo probabilístico para o presente estudo, se deu pelo fato dessa distribuição acomodar bem os parâmetros dos modelos tanto com caudas leves quanto com caudas pesadas. Essa alta flexibilidade é atribuída à presença do parâmetro  $\theta$  que controla a forma dessa distribuição que é geradora da forma canônica da distribuição de Laplace se  $\theta = 1$  e da distribuição normal  $(\mu, \frac{\sigma^2}{2})$  para  $\theta = 2$ , como consta no Apêndice B.

A forma univariada da função de densidade de probabilidade é representada por:

$$f(y) = \frac{1}{2\sigma \Gamma\left(1 + \left(\frac{1}{\theta}\right)\right)} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|^\theta\right\}. \quad (3.6)$$

Em que,  $-\infty < y < \infty$ ,  $\mu$ ,  $\sigma$  e  $\theta$  são números reais fixos que representam os parâmetros de localização, de escala/dispersão e de forma ( $\theta > 0$ ), respectivamente.

Sejam  $Y_{i1} \dots Y_{iD}$  os valores observados do indivíduo  $i$  (unidade experimental) nas  $D$  doses de cálcio. Considerando a extensão multivariada de (3.6) proposta por Goodman and Kotz [1973], a função densidade de probabilidade da distribuição normal  $\theta$  generalizada é representada por:

$$f(\mathbf{Y}_i) = K(D, \mathbf{C}, \theta) \exp\left\{-\sum_{j=1}^D \left|\sum_{l=1}^D C^{jl}(Y_{il} - \mu_{il})\right|^\theta\right\}, \quad (3.7)$$

em que  $K(D, \mathbf{C}, \theta)$  consiste na constante normalizadora definida por:

$$K(D, \mathbf{C}, \theta) = \left[ \left( 2\Gamma \left( 1 + \left( \frac{1}{\theta} \right) \right) \right)^D (\det \mathbf{C}) \right]^{-1},$$

e com erros  $\varepsilon_{il}$  representado da seguinte forma:

$\varepsilon_{il} = Y_{il} - \mu_{il}$ , com a média  $\mu_{il}$  representada pelos modelos citados da Tabela (3.2).

De acordo com a descrição anterior, realizou-se no experimento de remodelação cardíaca a administração de sete doses (D) consecutivas e acumulativas de cálcio, logo a equação (3.7) pode ser representada como segue:

$$f(\mathbf{Y}_i) = K(D, \mathbf{C}, \theta) \exp \left\{ - \sum_{j=1}^7 |C^{j1}(Y_{i1} - \mu_{i1}) + \dots + C^{j7}(Y_{i7} - \mu_{i7})|^\theta \right\}.$$

Como o interesse é modelar os erros, a densidade condicional para a distribuição dos erros pode ser expressada como:

$$f(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = K(D, \mathbf{C}, \theta) \exp \left\{ - \sum_{j=1}^D \left| \sum_{l=1}^D C^{jl} (Y_{il} - \mu_{il}) \right|^\theta \right\}, \quad (3.8)$$

$\mathbf{Y}_{i1}$  o vetor aleatório com distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada denotada por  $N_G(\boldsymbol{\mu}, \mathbf{C}, \theta)$  e  $\mathbf{C}$  a matriz não singular positiva definida ( $D \times D$ ) proveniente das seguintes decomposições.

$$\boldsymbol{\zeta} = \frac{1}{2} \mathbf{C} \mathbf{C}^T,$$

em que  $\boldsymbol{\zeta}$  representa as matrizes  $\boldsymbol{\Sigma}$  e  $\boldsymbol{\Omega}$  apresentadas nas seções 3.3.1 e 3.3.2. Assim a decomposição das matrizes  $\boldsymbol{\Sigma}$  e  $\boldsymbol{\Omega}$  foi construída por meio do algoritmo de Cholesky, como é mostrado na seção 3.4.1 a seguir.

### 3.4.1 Decomposição de Cholesky

De acordo com Ruggiero and Lopes [1988], o processo de decomposição de Cholesky consiste em um método utilizado na resolução de sistemas lineares do tipo  $(n \times n)$ , cuja matriz  $A$  do sistema tem como condição necessária e suficiente ser simétrica definida positiva, ou seja, para o cálculo do determinante de  $(A - \lambda I)$  todos os autovalores  $\lambda$  devem ser reais e positivos. Dessa forma, é possível decompor  $A$  como o produto de duas outras matrizes como segue:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} l_{11} & 0 & 0 & 0 \\ l_{21} & l_{22} & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ l_{n1} & l_{n2} & \cdots & l_{nn} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} l_{11} & l_{12} & \cdots & l_{1n} \\ 0 & l_{22} & \cdots & l_{2n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & l_{nn} \end{pmatrix}$$

ou equivalente,

$$\mathbf{A} = \mathbf{L}\mathbf{L}^T$$

As matrizes  $\mathbf{L}$  e  $\mathbf{L}^T$  são triangulares inferior e superior com elementos positivos na diagonal. Para obter  $\mathbf{L}$  realizam-se os seguintes passos operacionais:

1. Determinar  $l_{11}$

$$l_{11} = \sqrt{a_{11}}$$

2. Para  $j = 2, 3, \dots, n$ , definir

$$l_{j1} = \frac{a_{j1}}{l_{11}}$$

3. Para os elementos da diagonal, fazer

$$l_{ii} = \sqrt{a_{ii} - \sum_{p=1}^{i-1} l_{ip}^2} \quad \text{para} \quad i = 2, 3, \dots, n$$

4. Para  $j = i + 1, \dots, n$  e  $i \geq 2$ , encontrar

$$l_{ji} = \frac{a_{ji} - \sum_{p=1}^{i-1} l_{ip}l_{jp}}{l_{ii}} \quad \text{exceto para } i = n$$

Obs: Se  $i < n$ , então  $i = i + 1$ , e portanto retorne ao passo 3.

Se  $\mathbf{A}$  for uma matriz simétrica mas não definida positiva, este método poderá ainda ser aplicado, mas, em seguida levará a uma matriz  $\mathbf{L}$  com números complexos, de modo que o método torna-se impraticável Kreyszig [2010].

### 3.5 Estimação por máxima verossimilhança

No ajuste de modelos, um procedimento eficiente para obter as estimativas dos parâmetros das distribuições é o método de estimação por máxima verossimilhança (EMV). Esta abordagem trata o problema de estimação dos parâmetros por meio da maximização do logaritmo da função de verossimilhança, fornecendo estimadores com propriedades assintóticas eficientes, consistentes e convergentes. No entanto, em muitos casos, a obtenção dos estimadores de máxima verossimilhança não é possível analiticamente, neste caso, o uso da aproximação numérica se faz necessário.

Considere  $\mathbf{Y}_i$  o vetor  $D$  dimensional dos  $n$  indivíduos da amostra, com  $i = 1, 2, \dots, n$ . A função de verossimilhança é definida por:

$$L(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = \prod_{i=1}^n f(\mathbf{Y}_i),$$

Então, a função de verossimilhança de  $\boldsymbol{\beta}$ ,  $\mathbf{C}$  e  $\theta$  para os modelos da Tabela 3.2 é obtida pelo produto dos erros da função de densidade, assumindo a seguinte forma:

$$L(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = \prod_{i=1}^n \left\{ [(2\Gamma(1 + (\frac{1}{\theta})))^D (\det C)]^{-1} \exp \left\{ - \sum_{j=1}^D \left| \sum_{l=1}^D C^{jl} (Y_{il} - \mu_{il}) \right|^\theta \right\} \right\}, \quad (3.9)$$

ou o equivalente,

$$L(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = \prod_{i=1}^n \left\{ [(2\Gamma(1 + (\frac{1}{\theta})))^D (\det C)]^{-1} \exp \left\{ - \sum_{j=1}^D \left| \sum_{l=1}^D C^{jl} (Y_{il} - h(x_{d_{il}}, \boldsymbol{\beta})) \right|^\theta \right\} \right\}. \quad (3.10)$$

Logo a log-verossimilhança pode ser escrita como:

$$l(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = -n \log[(2\Gamma(1 + (\frac{1}{\theta})))^D (\det C)] - \sum_{i=1}^n \left\{ \sum_{j=1}^D \left| \sum_{l=1}^D C^{jl} (Y_{il} - h(x_{d_{il}}, \boldsymbol{\beta})) \right|^\theta \right\}, \quad (3.11)$$

$$l(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = -(nD) \log(2\Gamma(1 + (\frac{1}{\theta}))) - (n) \log(\det C) - \sum_{i=1}^n \left\{ \sum_{j=1}^D \left| \sum_{l=1}^D C^{jl} (Y_{il} - h(x_{d_{il}}, \boldsymbol{\beta})) \right|^\theta \right\}. \quad (3.12)$$

### 3.6 Função escore

A função escore  $\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$  é uma forma de estimação dos parâmetros muito importante no processo de verossimilhança, pois permite encontrar os estimadores de máxima verossimilhança do vetor de parâmetros de interesse a partir das derivadas parciais do logaritmo da função de verossimilhança da equação (3.11), em relação aos parâmetros do modelo.

$$\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = \frac{\partial(\log L(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta))}{\partial(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)}. \quad (3.13)$$

Para implementação da função escore  $\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$ , consideram-se os modelos apresentados na Tabela (3.2). Resolvendo o sistema de equações, encontram-se os valores dos estimadores de  $\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta$  que maximizam  $\mathbf{I}(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$  ou equivalente ao  $(\log L(\boldsymbol{\varepsilon}|\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta))$ .

Observa-se que o estimador de máxima verossimilhança fundamenta-se na resolução do sistema formado pelas equações de  $\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta) = \mathbf{0}$ . Outro ponto importante, é que a matriz  $\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$  deve ser positiva definida. Caso a matriz não seja positiva definida, e portanto não inversível, ela deve ser substituída pela matriz de informação de Fisher  $\mathbf{I}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$  determinada pela derivada segunda do logaritmo da função de verossimilhança da equação (3.11), avaliada no ponto de máximo.

Os cálculos das derivadas parciais necessários para a obtenção dos estimadores de máxima verossimilhança para os diferentes modelos, encontram-se determinados no Apêndice C. Vale lembrar que em muitos casos encontrar os estimadores de máxima verossimilhança pode não ser simples. Nestes casos, uma possibilidade é o uso de métodos numéricos para maximizar a função, destacando-se o método de Newton-Raphson, que consiste na expansão  $\mathbf{U}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{C}, \theta)$  em série de Taylor.

## 3.7 Bootstrap não paramétrico

A idéia central do algoritmo bootstrap não paramétrico, consiste em criar réplicas dos parâmetros por meio da reamostragem dos dados com o intuito de realizar inferência mais precisa acerca dos parâmetros de interesse.

### 3.7.1 Implementação do Algoritmo Bootstrap

1. Considere  $\mathbf{Y}_1, \dots, \mathbf{Y}_n$  os vetores de dados reais de  $n$  unidades experimentais, com distribuição  $F$  acumulada desconhecida. Em que, cada vetor  $\mathbf{Y}_i = (y_{i1}, \dots, y_{iD})$  representa as observações do indivíduo  $i$  nas  $D$  doses de cálcio.

Seja  $\hat{\theta}, \hat{\sigma}, \hat{\beta}, \dots$  estimadores dos parâmetros  $\theta, \sigma, \beta, \dots$  procedente da amostra original  $\mathbf{Y}$ .

2. Supondo que as observações são provenientes de uma distribuição  $F$ , por meio dos dados, pode-se estimar a função empírica  $\hat{F}$  com massa de probabilidade igual a  $\frac{1}{n}$  [Efron and Tibshirani, 1994], como segue:

$$\hat{F}(y) = \frac{\#(y_i \leq y)}{n}$$

3. Em seguida, gera-se a amostra aleatória bootstrap  $\mathbf{y}_i^*$ , com reposição. Tem-se, então,

$$\mathbf{Y}_i^* = (\mathbf{y}_{i1}^*, \dots, \mathbf{y}_{iD}^*), \text{ para } i = 1, 2, \dots, n.$$

4. Ajusta-se o estimador de máxima verossimilhança (EMV) do modelo e das novas amostras obtenha as réplicas dos estimadores bootstrap  $\hat{\theta}_{(b)}^*, \hat{\sigma}_{(b)}^*, \hat{\beta}_{(b)}^*, \dots$ , em que  $b = 1, 2, \dots, B$ , com  $B \simeq 10000$ .

5. Finalmente, calculam-se os valores do intervalo percentil  $\alpha$  e  $1 - \alpha$  da distribuição empírica  $\hat{F}$  definida por:

$$[\hat{\theta}_{(b_{inf})}^*; \hat{\theta}_{(b_{sup})}^*] = [\hat{F}^{-1}(\alpha), \hat{F}^{-1}(1 - \alpha)].$$

### 3.8 Seleção do modelo

A escolha de critérios para selecionar qual o modelo de crescimento que melhor se ajusta a um conjunto de dados é uma etapa importante na metodologia proposta. Esses critérios tornam-se necessários quando ao mesmo conjunto de dados são ajustados diversos modelos, pois, o modelo adotado deve ser o que melhor prediz a variável dependente de acordo com a realidade biológica estudada.

Assim, para selecionar o modelo é preciso levar em consideração a existência da perda de informações, uma vez que o modelo pode não conseguir captar a verdadeira natureza dos dados. Deste modo, são de vital importância alguns conhecimentos prévios que irão aproximá-los da realidade biológica existente, tendo em vista que, para explicar o fenômeno em estudo, se faz necessária a utilização de critérios que selecione o modelo mais adequado dentre aqueles que foram ajustados. Além disso, esses critérios devem investigar um modelo que forneça estimativas consistentes com número reduzido de parâmetros de forma que os resultados obtidos possam ser generalizados.

No entanto, é importante salientar que na prática modelos mais simples devem ser escolhidos frente aos mais complexos, desde que a qualidade do ajuste seja similar (princípio da parcimônia).

Diante do exposto, para ilustrar o fenômeno estudado, adotaremos dois indicadores estatísticos usuais para avaliar a qualidade de ajuste: o critério de informação de Akaike (AIC) e o critério de informação Schwarz (SBC), cuja descrição de cada um será detalhada a seguir.



### 1. Critérios de Informação de Akaike (AIC)

Seja  $L$  o valor maximizado da função de verossimilhança do modelo de crescimento, baseado em uma mostra de tamanho  $n$ . O critério de informação de Akaike (AIC), proposto por Akaike [1974] é denotado por:

$$AIC = -2 \ln L + 2(p + 1), \quad (3.14)$$

em que  $p$  é o número de parâmetros livres do modelo.

### 2. Critérios de Informação de Schwarz (SBC)

O critério de informação de Schwarz (SBC), foi proposto por Schwarz [1978] e é calculado pela seguinte equação.

$$SBC = -2 \ln L + (p + 1) \ln(n), \quad (3.15)$$

em que  $L$  é a função de verossimilhança da curva de crescimento apresentada,  $n$  o tamanho da amostra e  $p$  é o número de parâmetros livres.

Em ambos os critérios, quanto menor o valor obtido, melhor o ajuste do modelo.

# Capítulo 4

## Resultados da modelagem aplicada

A seguir serão apresentados os resultados da aplicação das classes de modelos de crescimento propostos ao conjunto de dados reais relativos ao experimento descrito anteriormente. Conforme detalhado nos objetivos do estudo, comparam-se os quatro modelos não lineares ilustrados na Tabela 3.2, com as estruturas homocedásticas com autocorrelação lag 1 e estrutura heterocedástica multiplicativa com erros normais  $\theta$  generalizado multivariado, considerando cada grupo formado pelo esquema de dois fatores avaliados isoladamente. Após esse procedimento, aplicam-se os critérios para seleção dos modelos com intuito de estabelecer o modelo mais eficiente e informativo para descrever o fenômeno biológico estudado. O processamento dos dados para os resultados apresentados neste capítulo, foi obtido por meio do ambiente de programação computacional R Development Core Team [2009] versão 3.3.1, no qual os comandos encontram-se no Apêndice F.

### 4.1 Resultados dos dados reais

#### 4.1.1 Descrição dos dados

Para o entendimento e conhecimento do fenômeno experimental sobre a resposta da TD, nos quatro grupos estudados faz-se inicialmente uma análise de inspeção visual gráfica e exploratória sobre alguns descritores estatísticos. Essa análise é essencial, pois fornece inúmeras informações primordiais para tomada de decisão estatística, assim como, permite averiguar o comportamento da tendência funcional das respostas da tensão em desenvolvimento (TD) em relação ao aumento consecutivo da administração de doses de concentração de cálcio ao longo do período de experimentação nos diferentes grupos. Encontram-se nas Tabelas 4.1 e 4.2, uma breve descrição dos efeitos da elevação da concentração de cálcio extracelular na função do músculo papilar do ventrículo esquerdo dos roedores, avaliados ao longo do experimento nas diferentes dietas estudadas.

Tabela 4.1: Medidas descritivas da TD do grupo SHAM de acordo com a dieta e níveis de cálcio.

Dieta	Doses de cálcio	Medidas Descritivas						
		Mínimo	Mediana	Média	Máximo	Desvio Padrão	Assimetria	Curtose
Norm	0,5	2,45	4,39	4,55	6,31	1,26	-0,11	-1,35
	1,0	2,41	4,83	5,11	7,40	1,44	-0,11	-1,23
	1,5	2,74	5,51	5,65	8,03	1,51	-0,09	-1,20
	2,0	2,97	5,86	5,96	8,27	1,53	-0,04	-1,22
	2,5	3,16	6,13	6,22	8,69	1,59	-0,01	-1,28
	3,0	3,35	6,19	6,41	8,90	1,66	0,06	-1,32
	3,5	3,53	6,18	6,52	8,99	1,66	0,05	-1,34
Hiper	0,5	2,30	3,81	4,06	6,99	1,15	1,00	0,37
	1,0	2,60	4,42	4,68	7,77	1,29	0,85	0,00
	1,5	2,87	5,03	5,22	8,29	1,38	0,54	-0,39
	2,0	3,10	5,66	5,58	8,68	1,43	0,35	-0,55
	2,5	3,25	6,08	5,85	8,76	1,46	0,09	-0,79
	3,0	3,49	6,20	6,04	8,95	1,50	-0,01	-0,98
	3,5	3,58	6,24	6,19	9,13	1,58	-0,06	-1,09

Tabela 4.2: Medidas descritivas da TD do grupo EAo de acordo com a dieta e níveis de cálcio.

Dieta	Doses de cálcio	Medidas Descritivas						
		Mínimo	Mediana	Média	Máximo	Desvio Padrão	Assimetria	Curtose
Norm	0,5	3,06	4,69	4,67	6,00	0,84	-0,14	-1,00
	1,0	3,16	5,09	5,06	6,74	0,91	-0,07	-0,55
	1,5	3,67	5,28	5,48	7,54	0,98	0,22	-0,57
	2,0	3,96	5,48	5,72	8,24	1,05	0,46	-0,33
	2,5	4,10	5,80	5,95	8,39	1,02	0,35	-0,34
	3,0	4,21	6,09	6,13	8,43	1,03	0,27	-0,58
	3,5	4,34	6,23	6,37	8,64	1,19	0,26	-1,00
Hiper	0,5	1,99	4,07	4,18	6,67	1,25	0,35	-0,50
	1,0	2,27	4,51	4,78	7,60	1,44	0,07	-0,84
	1,5	2,69	5,17	5,25	8,15	1,51	-0,00	-0,86
	2,0	2,81	5,56	5,47	8,57	1,64	-0,02	-1,03
	2,5	2,90	5,82	5,74	8,86	1,57	-0,05	-0,84
	3,0	2,99	6,01	5,98	8,99	1,54	-0,19	-0,49
	3,5	2,36	6,13	6,11	9,30	1,64	-0,34	-0,09

O estudo descritivo dos dados apresentados nas Tabelas 4.1 e 4.2 mostrou que ambos os grupos apresentaram capacidade de resposta média similar, já que a distribuição dos valores médios da TD é crescente nas doses subsequentes de cálcio. No entanto, no grupo denominado SHAM, observa-se que a medida de variabilidade da TD dos animais se tornou estável a partir da dose 3,0 mM, tanto para a dieta normolipídica quanto para a hiperlipídica. Já no grupo da EAO, o comportamento da variância não se manteve estável ao longo do tempo, fornecendo uma expressiva mudança na variabilidade da TD de acordo com a aplicação sequencial de cálcio. Além disso, as estatísticas descritivas dos dados corroboram com a indicação feita na metodologia em não utilizar a transformação logarítmica face a inspeção gráfica que mostra a presença da considerável simetria nos dados.

Em adicional às medidas resumos, observa-se visualmente por meio dos *box-plot* representado pela Figura 4.1, que em todos grupos os valores medianos da TD apresentaram um acréscimo progressivo de acordo com a aplicação sequencial de cálcio, assim como as outras estatísticas consideradas, o que justifica as características básicas inerentes ao experimento realizado.

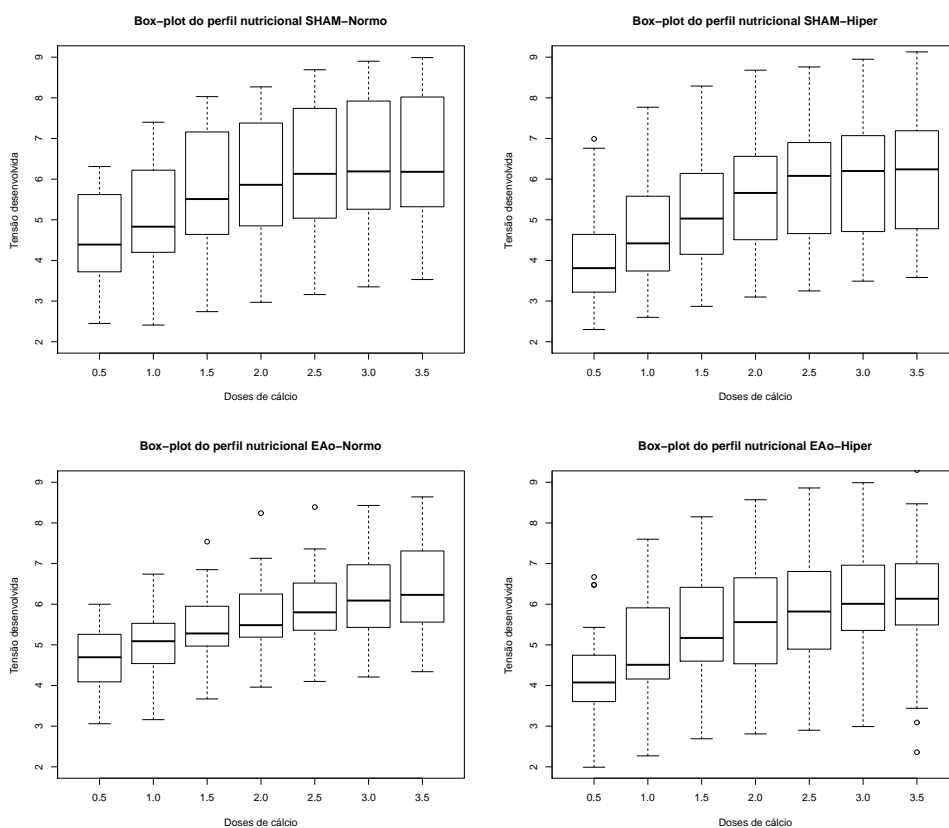


Figura 4.1: Box-plot da TD segundo a concentração de cálcio.

Na sequência, complementa-se a análise do comportamento da assimetria e curtose por meio das Figuras 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5. A inspeção gráfica visual destacou a con-

siderável simetria entre os dados. Esse fato, condiz com os resultados dos testes da assimetria apresentado no Apêndice D, no qual a hipótese de simetria não foi rejeitada ( $p > 0,05$ ) além disso, a avaliação do grau de achatamento das curvas por meio do teste da curtose, mostrou que em geral as curvas têm comportamento de forma platicúrtica em todos os tratamentos analisados.

Sob esse enfoque, pode-se constatar que os resultados apresentados fornecem evidências da necessidade da utilização do parâmetro de forma na adequação dos dados da distribuição normal de probabilidade, especificamente a distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada.

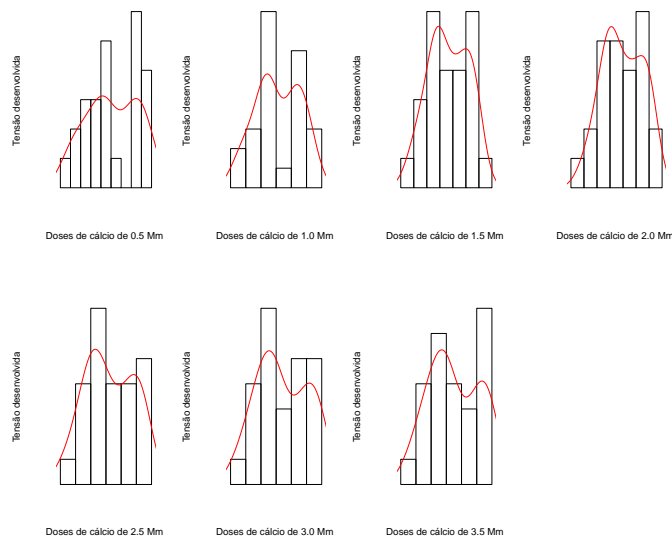


Figura 4.2: Histograma do grupo Sham-Norm da TD segundo a concentração de cálcio.

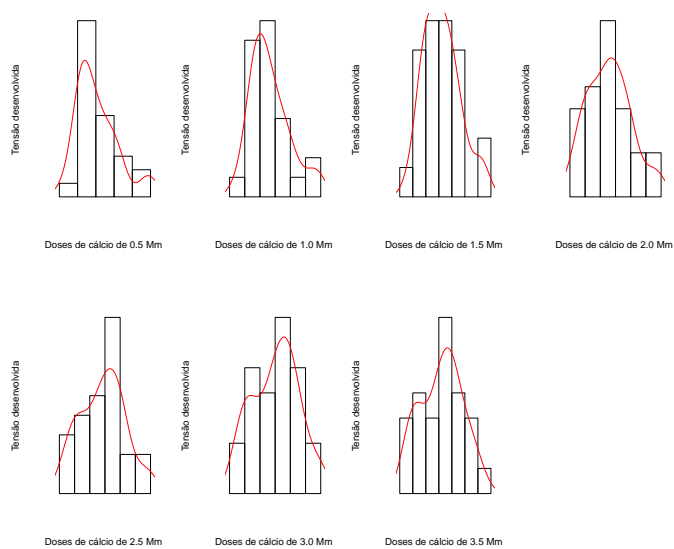


Figura 4.3: Histograma do grupo Sham-Hiper da TD segundo a concentração de cálcio.

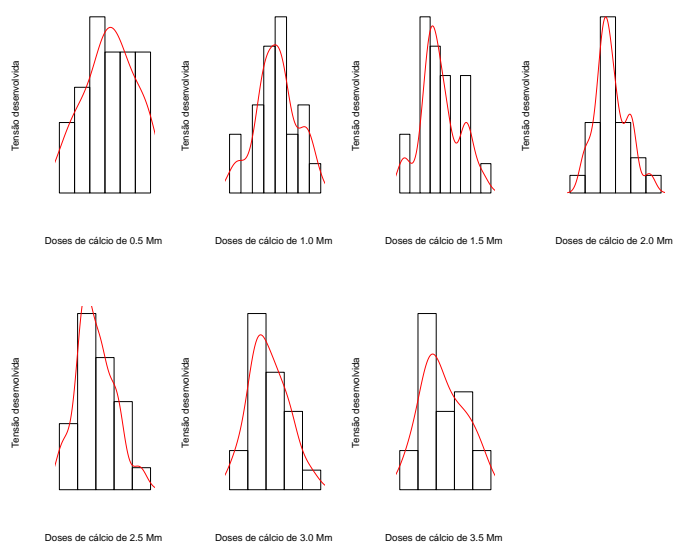


Figura 4.4: Histograma do grupo EAo-Norm da TD segundo a concentração de cálcio.

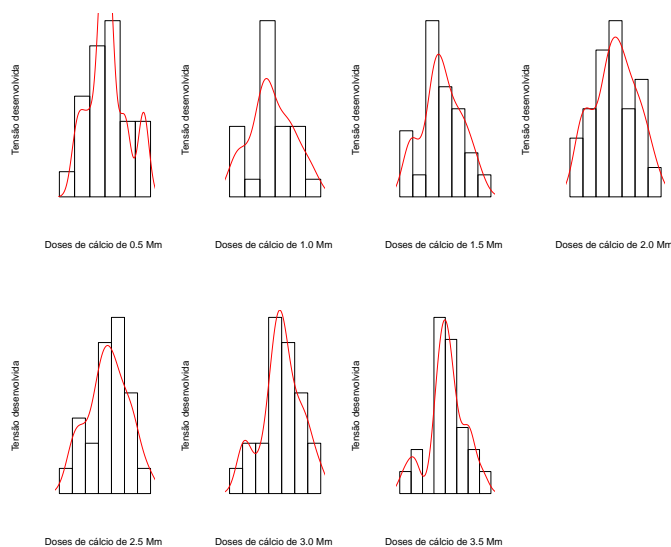


Figura 4.5: Histograma do grupo EAO-Hiper da TD segundo a concentração de cálcio.

Dando seguimento à comparação dos grupos experimentais, pode-se observar pelos valores da dispersão relativa ao seu valor médio, representados pela Figura 4.6, que a variabilidade não foi a mesma em todos as mensurações dos procedimentos das concentrações da manobra de cálcio. Em relação aos animais SHAM, a variação relativa da TD não modifica segundo a ração administrada aos animais. Além disso, seu comportamento permanece estável na faixa de 25% a 30%, com leve queda para as concentrações mais altas. Em relação aos animais que passaram pela cirurgia de estenose aórtica supravalvar (EAO) há uma mudança de comportamento da variável TD associada à ração administrada. Na dieta hiperlipídica, os valores da dispersão relativa são mais elevados em relação à normolipídica, assemelhando-se aos valores dos animais controle (SHAM). Neste grupo a dieta normolipídica estabiliza as respostas da TD nas diferentes concentrações de cálcio.

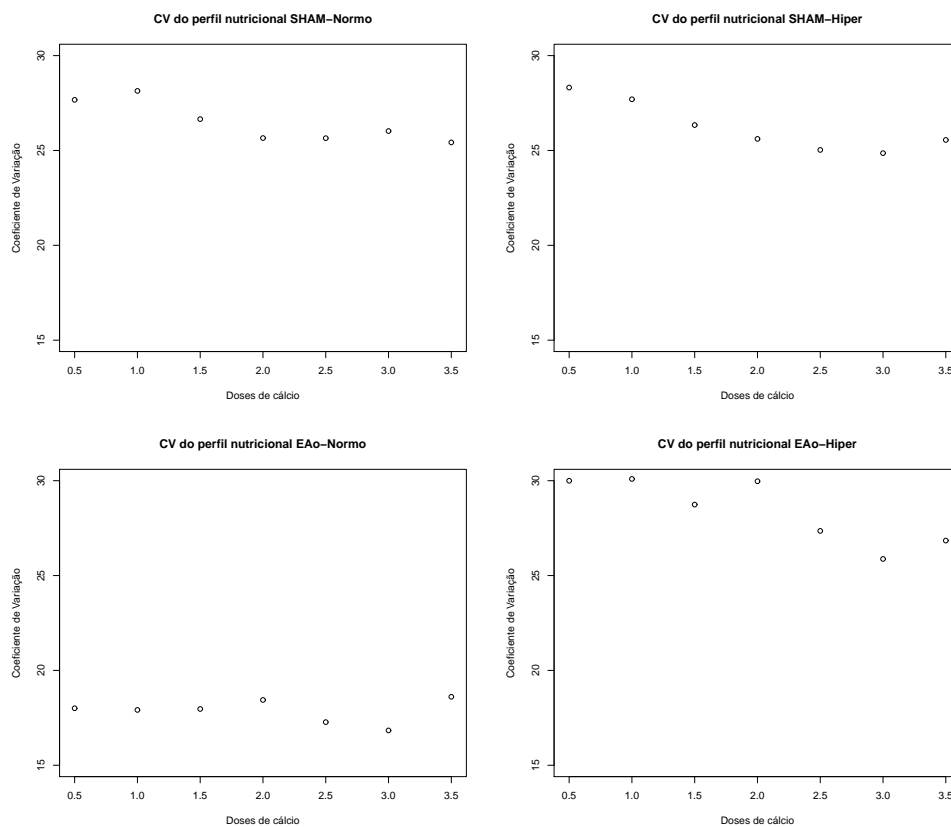


Figura 4.6: Coeficientes de variação da TD segundo a concentração de cálcio.

Na sequência, complementa-se a análise do comportamento da variabilidade por meio da Figura 4.7 que destaca os resíduos ajustados da TD não levando em consideração as variabilidades causadas pelas diferentes manobras de cálcio. Pela inspeção visual, pode-se notar inicialmente indícios de homogeneidade na variabilidade em termos dos erros à medida que os níveis sequenciais de cálcio são elevados.



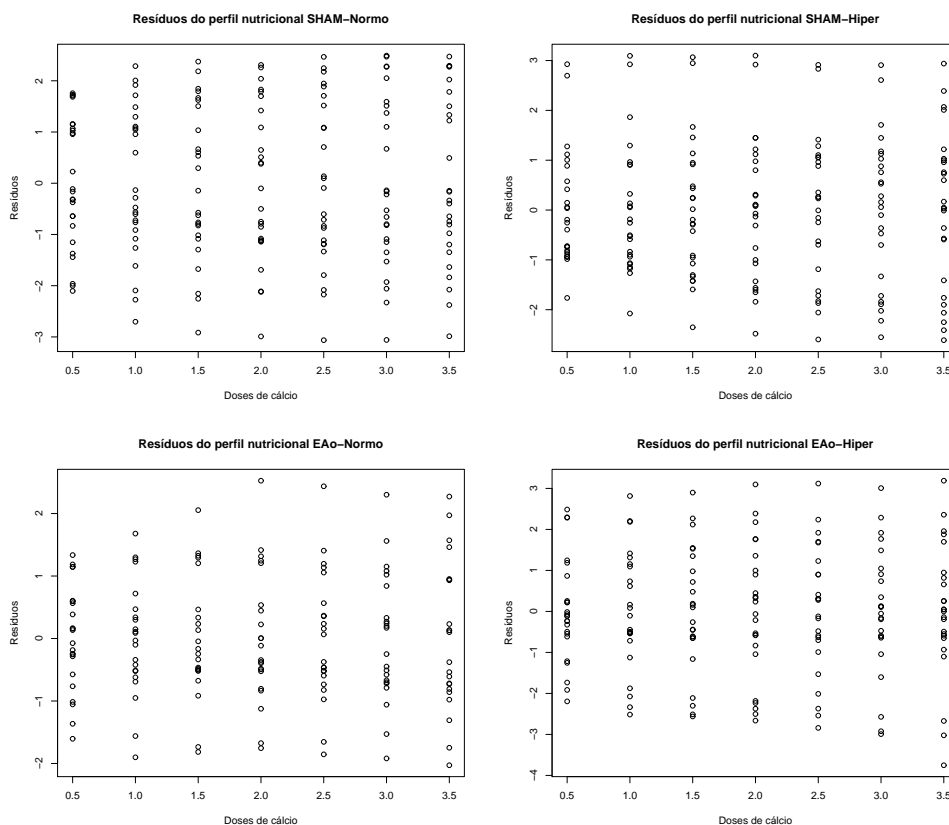


Figura 4.7: Resíduos ordinários ajustados pelo método dos mínimos quadrados da TD segundo a concentração de cálcio.

### 4.1.2 Estimação dos parâmetros

Nesta seção, descrevem-se as estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados nos diferentes grupos apresentados. As Tabelas 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 ilustram as estimativas considerando as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 ( $H1$ ) e heterocedástica multiplicativa ( $H2$ ). No processo de ajuste dos modelos, devido à dificuldade de convergência dos parâmetros dos modelos, optou-se em utilizar o coeficiente de correlação amostral de 0,70, nos demais parâmetros foram fornecidos valores iniciais, por meio dos quais a convergência foi atingida. Com a finalidade de inferir sobre os parâmetros dos modelos, os intervalos de confiança bootstrap foram considerados.

## Modelo Brody

Tabela 4.3: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Brody com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2).

Parâmetros	SHAM		EAo		
	Norm	Hiper	Norm	Hiper	
	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	
H1	a	5,23(5,211;5,269)	4,64(4,201;6,365)	4,93(4,903;6,109)	4,92(4,529;5,351)
	c	0,94(0,937; 0,951)	1,23(0,829;4,249)	1,74(0,653;1,783)	1,05(0,975;1,213)
	k	3,03(3,020;3,039)	2,87(2,313;3,263)	2,10(2,034;3,204)	2,96(2,849;3,053)
	$\theta$	1,17(1,125;1,201)	0,85(0,394;1,702)	0,81(0,489;1,462)	0,62(0,427;1,260)
	$\sigma^2$	2,73(2,714;2,743)	2,52(2,478;2,669)	2,00(1,995;2,921)	0,90(0,058;2,946)
	H2	a	4,02(-7,995;8,565)	5,27(-5,107;5,912)	3,37(-1,914;6,184)
c		-0,25(-1,209;22,416)	26,60 (21,030;27,546)	-0,01(-2,122;2,321)	0,30(0,039;25,822)
k		-0,42 (-5,238;5,901)	9,26(-5,097;10,785)	-1,30(-5,249;5,532)	0,01(-5,118;5,540)
$\theta$		0,84(0,025;0,853)	1,70(0,784;2,847)	2,32(0,855;2,885)	0,88(0,689;0,932)
$\sigma^2$		0,07 (0,001; 0,380)	0,01(0,001;0,922)	0,03(0,006;0,150)	0,04(0,013;0,264)
$\lambda$		2,46(2,179;2,684)	2,42(2,366;2,506)	2,21(2,054;2,565)	2,45(2,348;2,523)

Os resultados da Tabela 4.3, para o modelo Brody com a estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1), mostram por meio dos intervalos de confiança bootstrap que os parâmetros foram significantes em todos os modelos ajustados. No entanto, ao observar os modelos ajustados, considerando a estrutura heterocedástica multiplicativa (H2), constata-se pelos intervalos de confiança bootstrap que muitos parâmetros não foram estatisticamente significantes. Esse fato é facilmente justificado pela baixa variabilidade e forte correlação inerente a natureza biológica dos dados.

## Modelo Gompertz

Tabela 4.4: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Gompertz com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2).

Parâmetros	SHAM		EAo		
	Norm	Hiper	Norm	Hiper	
	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	
H1	a	3,94(3,891; 4,037)	4,58(3,740;5,324)	6,13(5,625;6,230)	5,26(5,056;5,304)
	c	-1,03(-1,071;-0,989)	-1,19(-2,105;-0,856)	-0,93(-1,076;-0,667)	-0,79(-0,954;-0,765)
	k	1,96(1,934;2,005)	2,89(2,327;3,081)	2,01(1,794;2,071)	2,13(2,029;2,154)
	$\theta$	0,60(0,579;0,707)	0,73(0,728;1,857)	1,61(1,038;1,879)	1,47(1,446;1,907)
	$\sigma^2$	1,89(1,746;1,954)	0,93(0,000;1,927)	1,03(0,382;1,544)	0,14(0,000;0,838)
	H2	a	6,77(5,759;6,849)	6,198(5,428;6,296)	5,35(5,034;6,303)
c		-59,87(-61,235;69,211)	-31,40(-42,271;61,691)	-243,12(-299,9;72,377)	-59,87(-62,445;68,282)
k		4,15(-0,056;5,304)	10,43(-0,377;18,281)	6,59(-0,379;19,66)	4,15(-6,598;32,797)
$\theta$		0,88(0,525; 0,894)	0,87(0,753; 0,893)	0,82(0,781 0,857)	0,89(0,695; 0,928)
$\sigma^2$		0,09(-0,014;0,182)	0,09(-0,131;1,230)	0,02(-1,011;1,129)	0,09(-0,013;1,522)
$\lambda$		2,48(2,466;2,521)	2,47(2,465;2,507)	2,49(2,463;2,518)	2,47(2,478;2,521)

Ao verificar os estimadores do modelo de Gompertz apresentados na Tabela 4.4, nota-se que para o caso homocedástico (H1) o parâmetro  $\sigma^2$  não foi estatisticamente

significante nos grupos tratados com dietas hiperlipídicas. Enquanto que na estrutura heterocedástica multiplicativa, apenas os parâmetros  $a$ ,  $\theta$  e  $\lambda$  apresentaram significância estatística nos modelos apresentados.

### Modelo Logístico

Tabela 4.5: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Logístico com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2).

Parâmetros	SHAM		EAo		
	Norm	Hiper	Norm	Hiper	
	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	
H1	a	3,96(3,940;4,002)	3,99(3,862;4,052)	3,99(3,992;4,036)	3,83(3,641;3,988)
	c	4,00(4,007;4,018)	3,02(3,002;3,064)	3,02(3,005;3,022)	2,01(1,997;2,028)
	k	1,95(1,932;1,976)	1,94(1,840;2,003)	1,94(1,952;1,994)	2,98(2,954;3,001)
	$\theta$	0,63(0,608;0,661)	0,69(0,469;0,706)	0,69(0,447;0,663)	2,55(2,168;3,273)
	$\sigma^2$	2,00(1,922;2,058)	1,85(1,667;2,019)	1,85(1,717;1,927)	0,14(0,090;0,460)
	H2	a	1,11(1,010;1,992)	0,14(0,045;1,815)	0,39(0,064;1,697)
c		-0,28(-6,001;0,996)	-2,35(-2,590;0,289)	-2,30(-2,820;0,484)	-2,35(-4,001;-3,995)
k		-1,14(-1,989;2,001)	-0,45(-1,450;1,934)	-0,45 (-1,739;1,470)	-0,43(-2,993;1,021)
$\theta$		1,53(1,310;1,630)	0,72(0,098; 0,804)	0,72(0,094;0,835)	0,73(0,310;1,315)
$\sigma^2$		0,08(-0,353;0,382)	0,06(0,000;0,148)	0,01(-0,04;0,869)	0,04(-0,021;0,042)
$\lambda$		2,25(2,219;2,271)	2,56(2,558;2,814)	2,56(2,454;2,712)	2,55(2,269;2,712)

De acordo com a Tabela 4.5, pode-se observar que os estimadores do modelo Logístico com a estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1), foram significantes em todos os grupos estudados. De forma similar ao modelo Gompertz com a estrutura heterocedástica multiplicativa (H2), apenas os os parâmetros  $a$ ,  $\theta$  e  $\lambda$  apresentaram intervalos bootstrap dentro dos limites aceitáveis de confiança em todos os grupos estudados.

### Modelo Von Bertalanffy

Tabela 4.6: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Von Bertalanffy com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2).

Parâmetros	SHAM		EAo		
	Norm	Hiper	Norm	Hiper	
	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	EMV (IC 95%)	
H1	a	5,17(4,836;5,408)	3,85(3,467;3,893)	5,58(5,565;6,369)	5,37(4,737;5,850)
	c	1,97(1,904;2,101)	1,03(0,370;1,099)	0,65(0,189;0,918)	0,80(0,527;1,144)
	k	3,06(2,908;3,164)	2,98(2,951;3,476)	2,41(2,398; 2,669)	2,99(2,795;3,241)
	$\theta$	0,58(0,4912;1,336)	0,51(0,377;0,689)	1,05(0,757; 1,635)	0,46(0,382;0,729)
	$\sigma^2$	2,14(0,000;2,973)	3,19(0,000;3,332)	1,75(1,239;1,850)	2,83(1,253;3,110)
	H2	a	0,29(0,181;2,357)	6,41(5,321;7,314)	5,55(5,364;5,982)
c		-1,04(-1,206;0,131)	0,59(-0,108;0,997)	21,67(0,000; 26,085)	0,00(0,000;1,191)
k		-0,12(-0,389;1,615)	0,53(-0,441;1,229)	20,07(-18,875;22,605)	-1,57(-2,146;1,940)
$\theta$		1,50(0,389;1,615)	3,71(0,730; 3,837)	2,28(0,059; 2,880)	1,41(0,696; 1,720)
$\sigma^2$		0,01(-0,001;1,671)	0,03(-0,025;2,217)	3,20(-0,087;4,041)	0,12(0,073;2,935)
$\lambda$		2,26(2,255;2,497)	1,77(1,469;2,497)	0,01(0,004;3,278)	0,03(0,005;1,868)

O modelo de Von Bertalanffy promoveu um bom ajuste, apenas para a estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) dos grupos que passaram pelo procedimento cirúrgico para indução da estenose aórtica supraválvular (EAO). Já a estrutura heterocedástica multiplicativa (H2), se comportou de forma similar aos outros modelos considerados.

Note que, a presença de certo grau de heterocedasticidade nos dados é evidenciada com a rejeição da hipótese de que o parâmetro  $\lambda = 0$ , em todos os modelos ajustados. No entanto, o uso dessa estrutura foi inviabilizado, pois analisando os demais parâmetros dos modelos, pode-se constatar que estes na maioria das vezes não apresentaram significância estatística para os ajustes realizados.

### 4.1.3 Seleção dos modelos

Uma vez realizados os devidos ajustes, foram empregados critérios para auxiliar na seleção e comparação dos modelos estudados. Os resultados descritos para cada estrutura considerada (homocedástica com autocorrelação lag 1 e heterocedástica multiplicativa) encontram-se na Tabela 4.7.

Tabela 4.7: Critério de seleção dos modelos das curvas de crescimento ajustada com as estruturas homocedástica com autocorrelação lag 1 (H1) e heterocedástica multiplicativa (H2).

Autor	SHAM				EAo				
	Norm		Hiper		Norm		Hiper		
	AIC	SBC	AIC	SBC	AIC	SBC	AIC	SBC	
H1	BY	<b>2745,863</b>	<b>2754,395</b>	<b>2886,517</b>	<b>2895,050</b>	2966,102	2973,739	3730,036	3738,283
	GZ	3362,115	3370,647	3898,704	3907,236	3766,805	3774,442	5220,897	5229,143
	LO	3135,281	3143,813	3196,744	3205,276	3335,916	3343,554	5487,695	5495,942
	VB	3289,763	3298,296	3398,815	3407,347	<b>2224,708</b>	<b>2232,345</b>	<b>2353,419</b>	<b>2361,666</b>
H2	BY	<b>8044,75</b>	<b>8053,28</b>	17647,48	17656,02	10072,85	10080,49	8227,998	8236,245
	GZ	10620,46	10628,71	11082,77	11091,30	9192,97	9200,61	10620,46	10628,71
	LO	12201,35	12209,88	<b>9269,63</b>	<b>9278,16</b>	<b>7795,91</b>	<b>7803,54</b>	<b>7593,98</b>	<b>7602,23</b>
	VB	13459,90	13468,44	12802,55	12811,08	11860,66	11868,29	11162,43	11170,67

Os avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos demonstram que para o caso homocedástico (H1), os critérios de AIC e SBC foram decisivos em favor do modelo Brody ajustado para os conjuntos de dados dos grupos denominados SHAM. Além disso, esses mesmos critérios, também mostraram que o modelo Von Bertalanffy foi quem promoveu melhor ajuste nos demais grupos de dietas estudados. Já para a estrutura heterocedástica (H2), os grupos das dietas SHAM-Hiper, EAo-Norm e EAo-Hiper obtiveram melhores ajustes mediante a função logística, enquanto que, o grupo de dieta SHAM-Norm foi melhor descrito pelo modelo Brody. Como os modelos ajustados, considerando a estrutura heterocedástica multiplicativa apresentaram-se insatisfatórios, com muitos intervalos de confiança bootstrap, amplos e não significantes, optou-se em avaliar a qualidade do ajuste apenas nos modelos homocedásticos. Diante disso, com base nesses resultados, procederam-se as análises com a realização do estudo da performance dos parâmetros dos modelos selecionados e em seguida avaliou-se a qualidade do ajuste do modelo Brody nos grupos SHAM e do modelo Von Bertalanffy para os demais grupos analisados.

#### 4.1.4 Estudo dos parâmetros

Ao examinar os histogramas dos 10000 parâmetros estimados via a reamostragem bootstrap, pode-se observar visualmente que, em várias situações, a distribuição normal está presente nos diversos parâmetros, Figuras 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11. Quando há uma evidente discordância da normalidade, o uso de uma nova reparametrização é sugerido Ratkowsky [1990]. No presente estudo, o comportamento dos parâmetros não é o principal foco. Desse modo daremos continuidade as análises sem o uso das tais transformações.

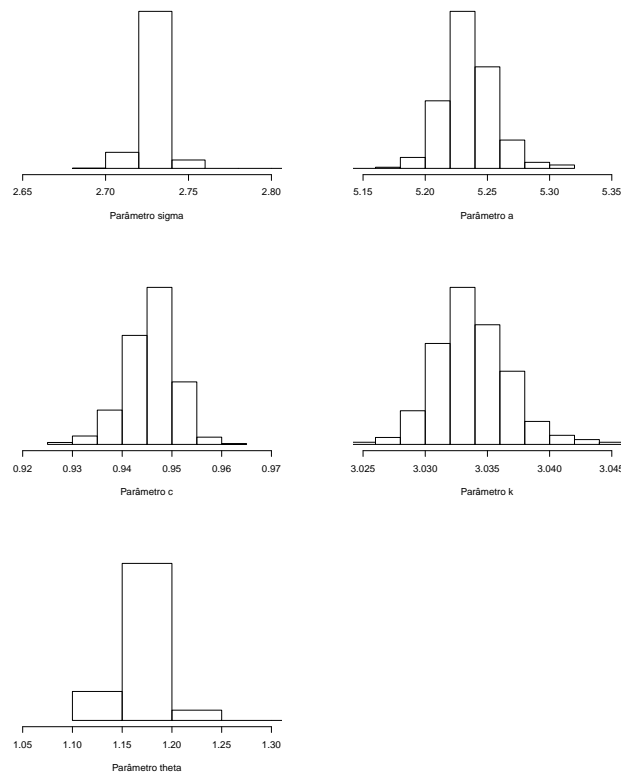


Figura 4.8: Histogramas dos parâmetros do grupo SHAM-Norm ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

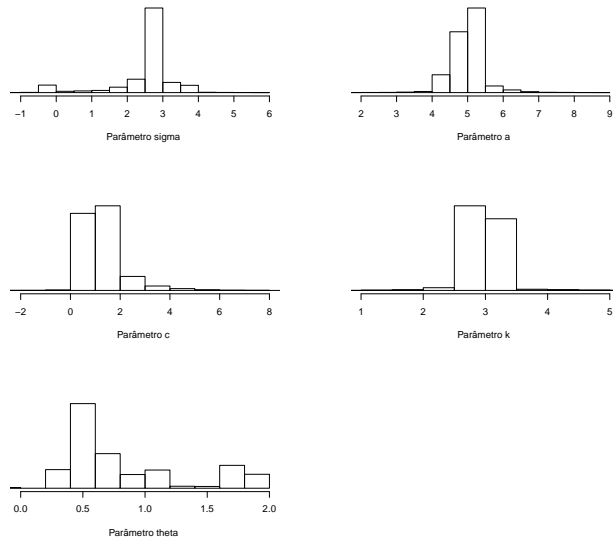


Figura 4.9: Histogramas dos parâmetros do grupo SHAM-Hiper ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

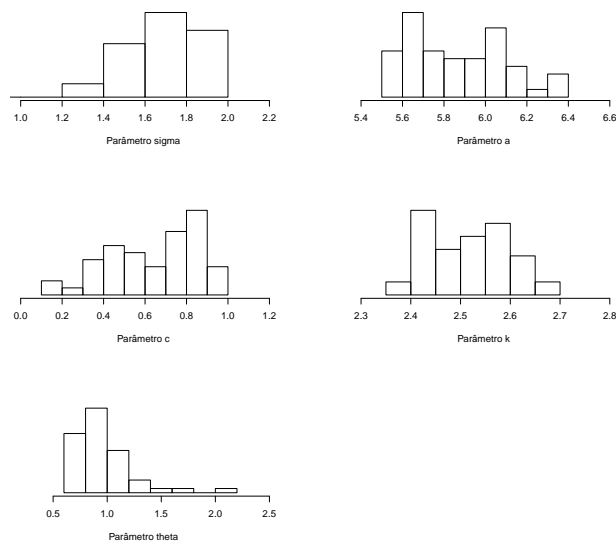


Figura 4.10: Histogramas dos parâmetros do grupo EAo-Norm ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

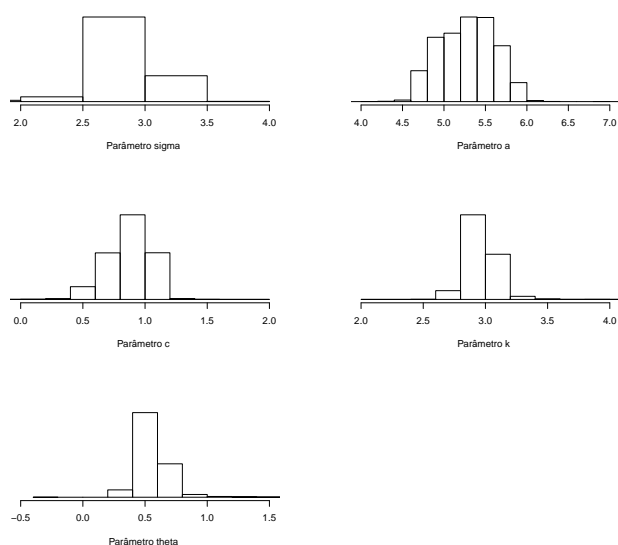


Figura 4.11: Histogramas dos parâmetros do grupo EAo-Hiper ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

O próximo passo consiste em fornecer as interpretações associadas aos modelos ajustados. Conforme a Figura 4.12, verifica-se que a resposta da TD aumenta para as concentrações mais altas de cálcio, sendo que nas mais elevadas há uma certa estabilização. Nesse sentido, a taxa de crescimento da tensão em desenvolvimento TD obtida pela derivada primeira do modelo Brody em relação à dose, corrobora com o decaimento que a TD sofre com o aumento consecutivo das doses cálcio. Essa queda é bastante sensível nos valores mais baixos de cálcio com variação acentuada até de 2,0 mM de cálcio, estabilizando-se rapidamente a partir da próxima dose. Em relação à desaceleração do crescimento (derivada segunda), esta se comportou de forma similar, atingindo o valor zero a partir da dose de 2,0 mM. Torna-se importante observar que todas as relações funcionais da TD, em função do cálcio para a indicação do valor estimado, têm que se considerar a dose, isto é a TD responde sempre como dose dependente. Esses resultados sugerem que a taxa máxima de crescimento da TD foi alcançada muito cedo, sendo desnecessária a aplicação das doses mais elevadas nos grupos que não passaram pela cirurgia para a indução da estenose aórtica supralvar (SHAM). As expressões das derivadas necessárias para obtenção da taxa de crescimento e desaceleração da TD encontram-se no Apêndice E.



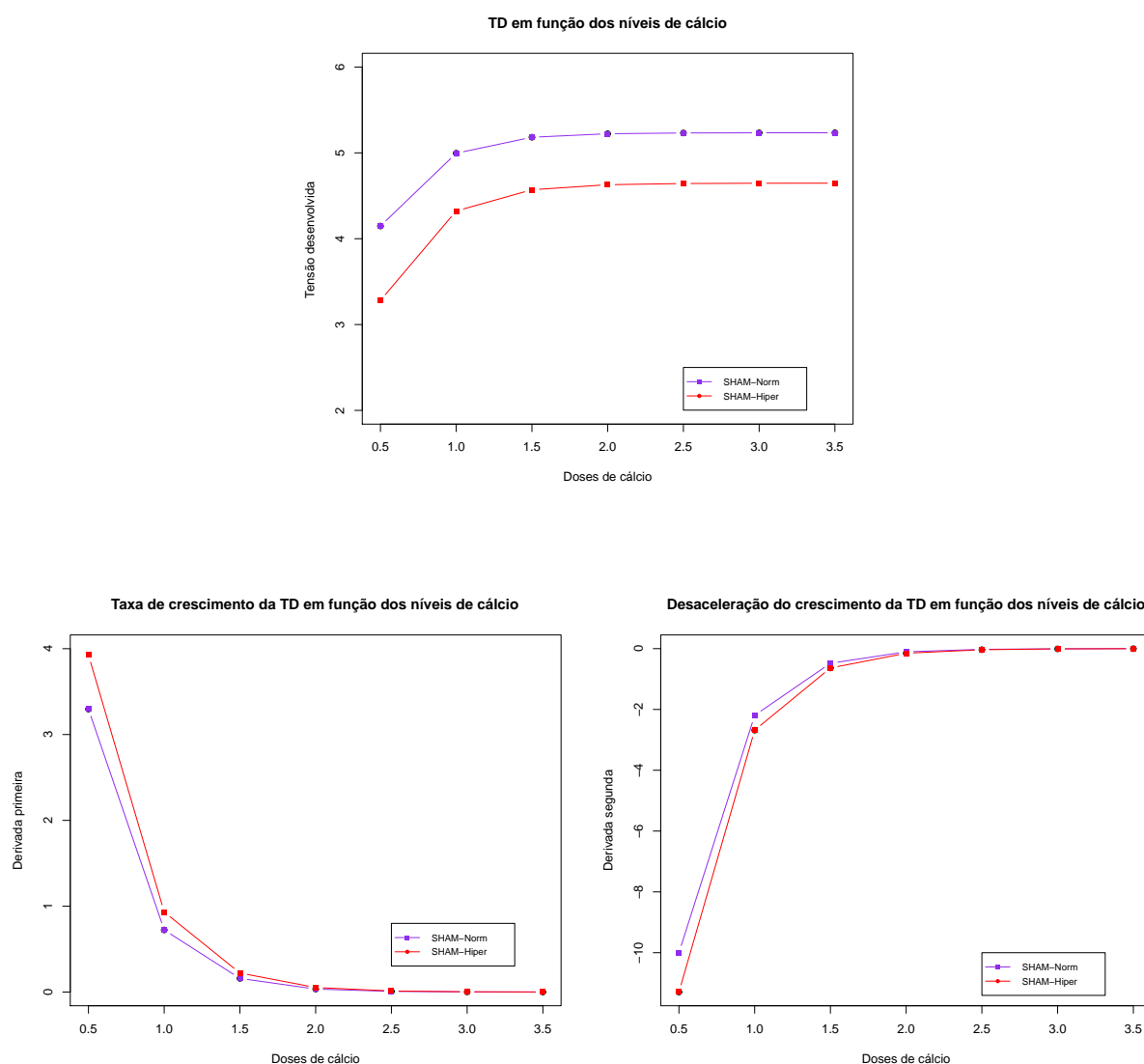


Figura 4.12: Derivadas dos parâmetros do grupo SHAM ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

Analisando a taxa de crescimento da TD do grupo que passou pela cirurgia para a indução da estenose aórtica supravalvar (EAO), pode-se observar que de forma similar ao grupo SHAM, a TD decaiu de acordo com o aumento consecutivo das doses cálcio Figura 4.13. No entanto, note que, essa queda para este grupo pode ser observada até a dose 2,5 mM de cálcio, além disso a desaceleração do crescimento da TD só atingiu parada a partir da dose de 2,5 mM. Nesse sentido, os resultados apontam que independente da dieta administrada, para atingir o ponto de estabilização da resposta da TD, o grupo EAO necessita de quantidades mais elevadas de doses de cálcio do que o grupo controle, denominado SHAM. Nesses dois grupos de estenose, todas as relações funcionais dos modelos também são caracterizados como doses dependentes.

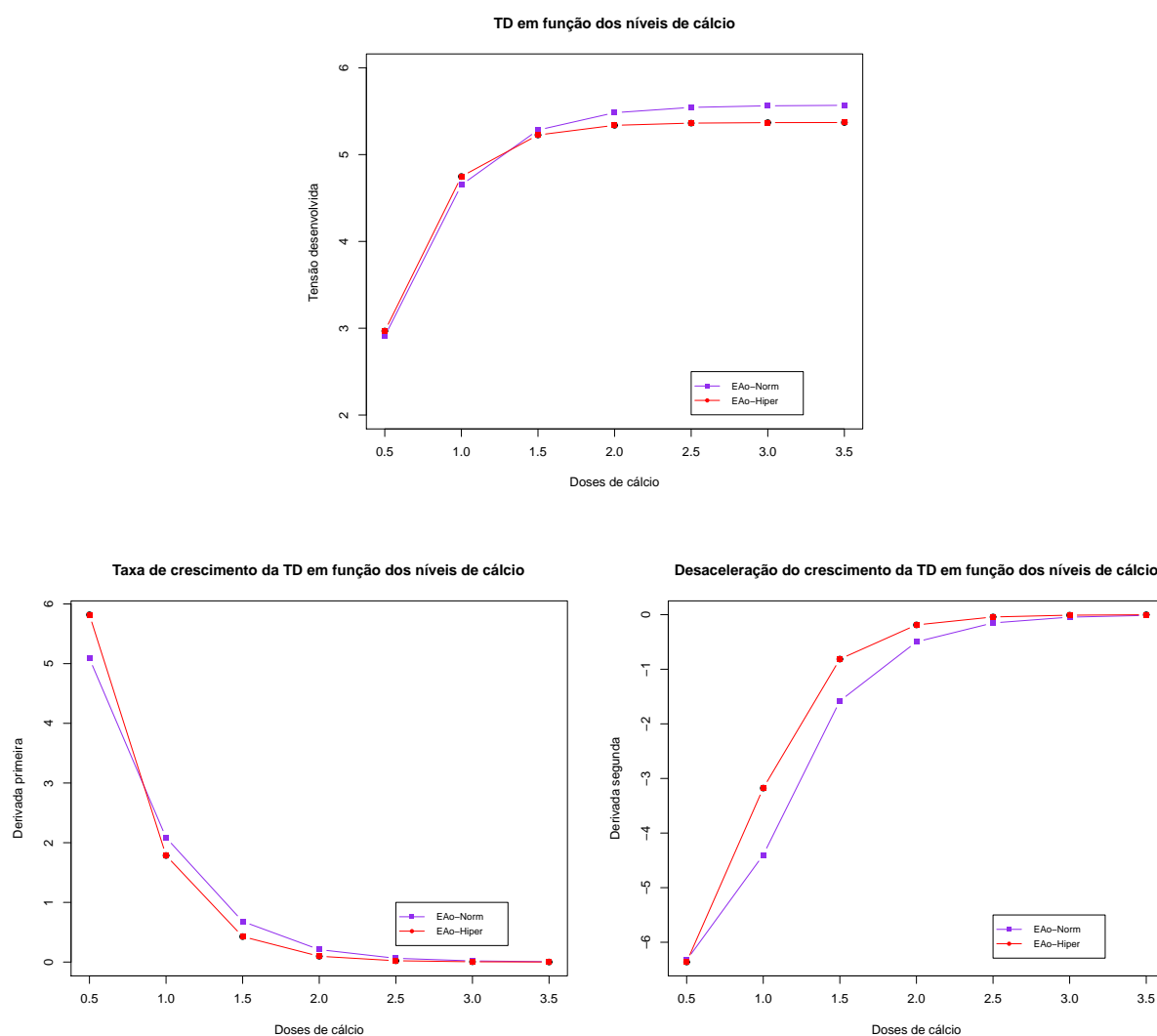


Figura 4.13: Derivadas dos parâmetros do grupo EAO ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

#### 4.1.5 Análises dos resíduos e curvas estimadas

Após o processo de seleção dos modelos, realizou-se a inspeção gráfica visual das Figuras 4.14, 4.16, 4.18 e 4.20, e por meio delas pode-se notar que os resíduos estimados encontram-se dentro do intervalo de confiança.

Um ponto fundamental neste trabalho é que os modelos selecionados apresentaram curvas crescentes superiores aos demais modelos, Figuras 4.15, 4.17, 4.19 e 4.21. Estes resultados refletem uma característica interessante sob o aspecto biológico no ajuste dos modelos de crescimento estimado, já que concordam com o resultado esperado pelo experimento realizado, no qual se espera que a melhor curva estimada, seja aquela que represente maior tensão desenvolvida (TD) advinda de menor estímulo.

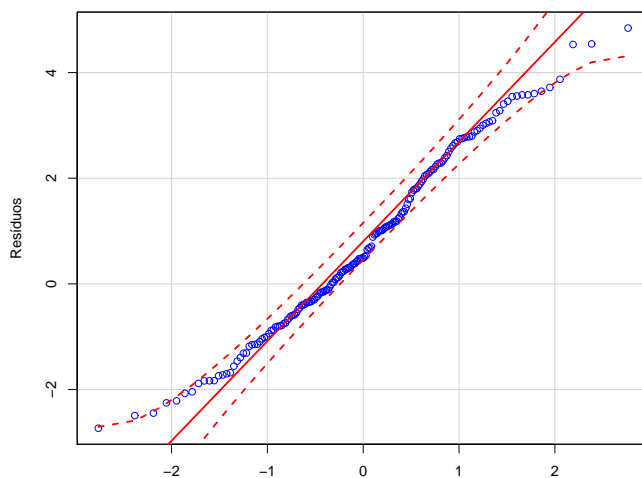


Figura 4.14: Resíduos do grupo SHAM-Norm ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

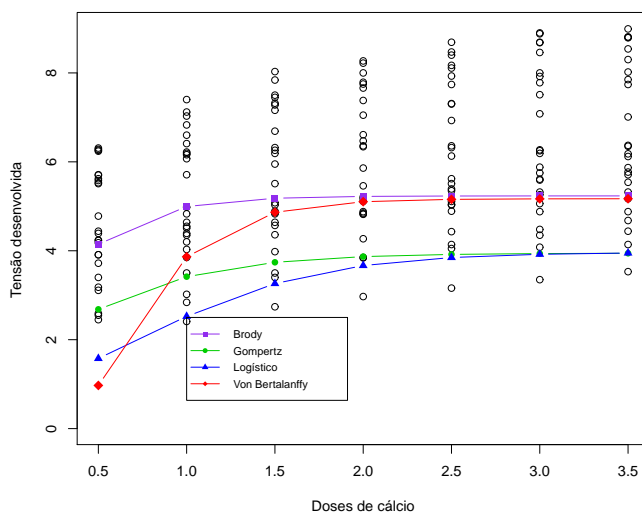


Figura 4.15: Curvas da TD média estimada do grupo SHAM-Norm para os diferentes modelos.

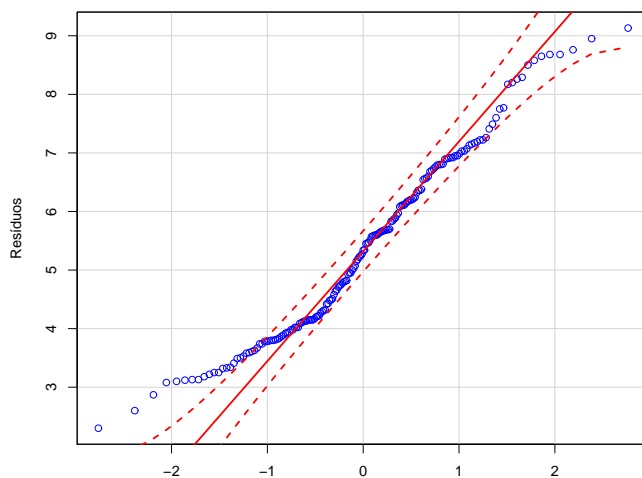


Figura 4.16: Resíduos do grupo SHAM-Hiper ajustado por meio do modelo Brody considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

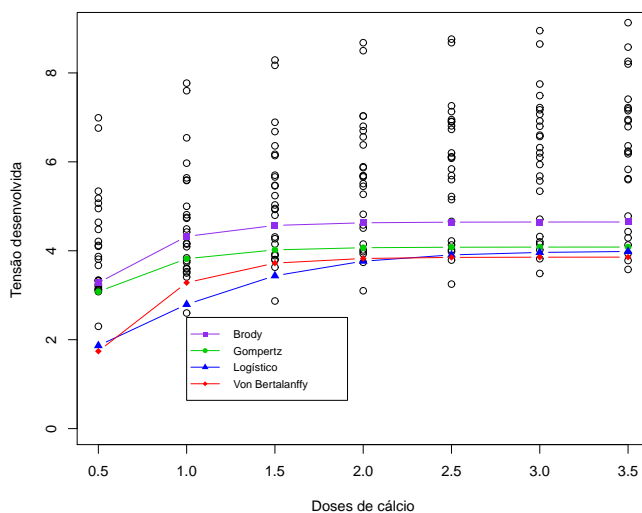


Figura 4.17: Curvas da TD média estimada do grupo SHAM-Hiper para os diferentes modelos.

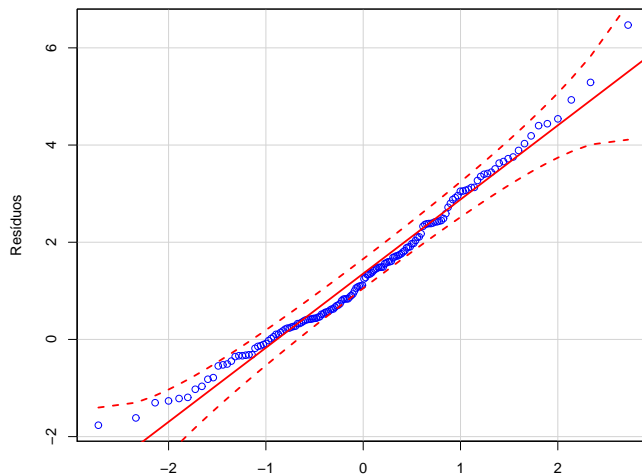


Figura 4.18: Resíduos do grupo EAo-Norm ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

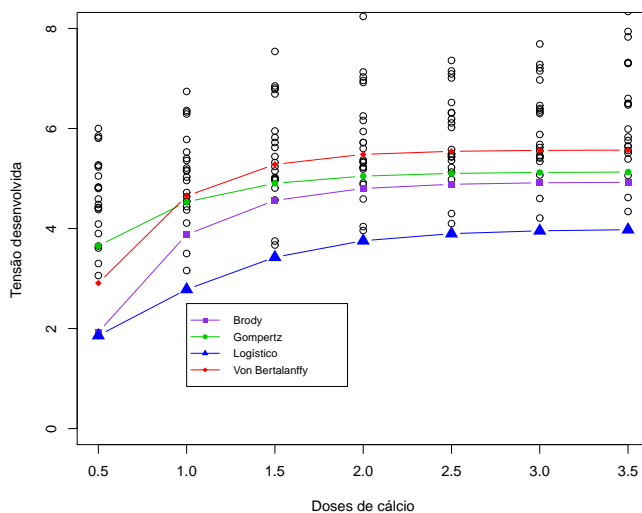


Figura 4.19: Curvas da TD média estimada do grupo EAo-Norm para os diferentes modelos.

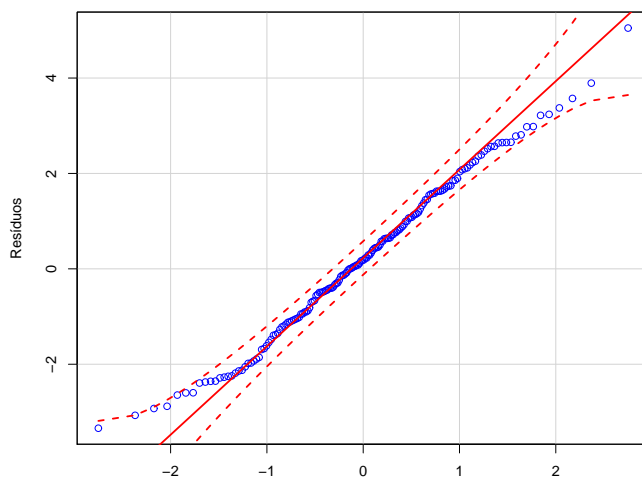


Figura 4.20: Resíduos do grupo EAo-Hiper ajustado por meio do modelo Von Bertalanffy considerando estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

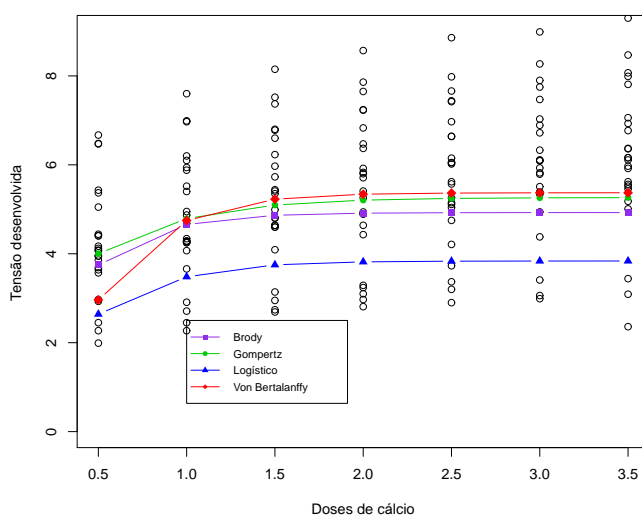


Figura 4.21: Curvas da TD média estimada do grupo EAo-Hiper para os diferentes modelos.

## 4.2 Resultados dos dados simulados

Nesta seção, ilustra-se a metodologia desenvolvida anteriormente para um conjunto de dados simulados. O estudo de simulação foi desenvolvido com o intuito de verificar a adequação do modelo com a estrutura homocedástica com a presença de autocorrelação lag 1. A performance do estudo será comprovada por meio dos avaliadores da qualidade do ajuste descrito no capítulo 3.6.

### 4.2.1 Estudo dos dados simulados

Na geração do conjunto de dados simulados, para a abordagem com estrutura homocedástica com a presença de autocorrelação lag 1, foram utilizados os modelos de Brody e Von Bertalanffy. Assim foram geradas amostras com diferentes graus de correlação  $\rho = 0,70$ ,  $\rho = 0,50$  e  $\rho = 0,10$  de tamanho  $n = 25$  e  $\theta = 2$ , proveniente das sete concentrações de doses cálcio delineada no experimento. Os valores dos parâmetros utilizados para geração dos dados foram:  $a = 5$ ,  $c = 1$ ,  $k = 3$  e  $\sigma^2 = 3$ .

### 4.2.2 Simulação modelo Brody

A Tabela 4.8 ilustra os valores dos avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos de crescimento ajustados com erros normais  $\theta$  generalizado multivariado em função dos diferentes graus de correlação.

Tabela 4.8: Sumário dos critérios de seleção com estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

Autor	$\rho = 0,10$		$\rho = 0,50$		$\rho = 0,70$	
	AIC	SBC	AIC	SBC	AIC	SBC
BY	<b>1990,378</b>	<b>1998,016</b>	<b>1890,397</b>	<b>1898,034</b>	<b>2086,021</b>	<b>2093,658</b>
GZ	2536,731	2544,368	2679,417	2687,055	2627,547	2635,184
LO	2268,641	2276,278	3729,979	3737,616	3412,409	3420,047
VB	3417,988	3425,625	1898,878	1906,515	2792,610	2800,248

Os valores contidos na Tabela 4.8, apontam por meio dos avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos que entre todos os modelos utilizados com erro normal  $\theta$  generalizado multivariado, o modelo de Brody como mais eficiente para representar o conjunto de dados simulados, pois forneceu menor valor para o AIC e SBC, independente do grau de correlação utilizado.

Já os resultados do estudo das simulações apresentados na Tabela 4.9, permitiram avaliar o desempenho dos estimadores dos parâmetros ( $a, c, k, \sigma^2$  e  $\theta$ ) nos diversos graus

de correlação por meio dos seguintes estimadores: estimador de máxima verossimilhança (EMV) dos parâmetros  $a, c, k, \sigma^2$  e  $\theta$  com seus respectivos intervalos de confiança via bootstrap não paramétrico, o erro quadrado médio (EQM) e as estimativas dos vieses dos estimadores. Os estimadores foram calculados considerando os coeficientes de correlação fraco ( $\rho = 0, 10$ ), médio ( $\rho = 0, 50$ ) e forte ( $\rho = 0, 70$ ).

Com base nesses resultados, observa-se pelas estimativas de máxima verossimilhança que os valores utilizados para gerar os dados encontram-se próximo aos valores estimados, independentemente do grau de correlação aplicado. Além disso, a mudança do grau de correlação provocou uma pequena variação no erro quadrado médio e no viés dos estimadores. Entretanto, o comportamento das estimativas dos vieses dos estimadores foi imparcialmente em torno do zero, sugerindo dessa forma, uma forte indicação do comportamento não linear dos modelos pesquisados.

Tabela 4.9: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo Brody.

	Parâmetros	EMV(IC 95%)	EQM	Viés
$\rho = 0, 10$	a	5,12(5,011;5,214)	1,223	0,003
	c	0,95(0,791;0,947)	0,902	0,001
	k	3,02(2,751;3,191)	0,301	0,027
	$\sigma^2$	3,25(2,998;3,391)	0,403	0,006
	$\theta$	1,49(1,431;1,590)	0,933	0,014
$\rho = 0, 50$	a	5,17(5,162;5,183)	1,102	0,006
	c	0,98(0,971;0,982)	0,880	0,003
	k	3,02(3,016;3,021)	0,363	0,001
	$\sigma^2$	3,96(3,940;3,984)	0,420	0,012
	$\theta$	1,42(1,331;1,501)	0,912	0,124
$\rho = 0, 70$	a	5,46(5,421;5,493)	1,130	0,025
	c	1,31(1,223;1,992)	0,895	0,077
	k	2,91(2,811;2,922)	0,259	0,097
	$\sigma^2$	3,95(3,901;3,967)	0,523	0,153
	$\theta$	1,39(1,224;1,452)	1,092	0,320



### 4.2.3 Simulação modelo Von Bertalanffy

A Tabela 4.10 ilustra os valores dos avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos de crescimento ajustados com erros normais  $\theta$  generalizado multivariado em função dos diferentes graus de correlação.

Tabela 4.10: Sumário dos critérios de seleção com estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1.

Autor	$\rho = 0,10$		$\rho = 0,50$		$\rho = 0,70$	
	AIC	SBC	AIC	SBC	AIC	SBC
BY	1430,932	1438,569	4523,352	4530,989	5387,748	5395,385
GZ	3027,562	3035,199	2636,308	2643,945	2763,627	2771,264
LO	1480,654	1488,291	2602,982	2610,620	2241,218	2248,855
VB	<b>1194,914</b>	<b>1202,551</b>	<b>2201,844</b>	<b>2209,481</b>	<b>1393,409</b>	<b>1401,046</b>

Os avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos apresentados na Tabela 4.10 indicam, entre os modelos candidatos, o Von Bertalanffy como o mais eficiente para representar o conjunto de dados simulados, pois apresentou menor valor para todos os critérios estudados, independente do grau de correlação escolhido.

Diante desse resultado, analisaram-se as estimativas de máxima verossimilhança do modelo selecionado com seus respectivos intervalos de confiança bootstrap, o erro quadrado médio e os vieses dos parâmetros estimados.

Dessa forma, mediante os resultados da Tabela 4.11, foi possível constatar que os parâmetros estimados encontram-se próximo aos valores reais dos parâmetros, nos diferentes graus de correlação empregados. Adicionalmente, os resultados dos parâmetros, quando simulam-se dados proveniente do modelo Von Bertalanffy, mostraram que em alta correlação  $\rho = 0,70$ , os estimadores apresentaram vieses superior ao viés das demais correlações simuladas. Por exemplo, o estimador  $\hat{a}$  para  $\rho = 0,70$  o viés do parâmetro  $a$  foi 0,107, enquanto os vieses desse mesmo parâmetro para  $\rho = 0,50$  e  $\rho = 0,10$  foram 0,033 e 0,034, respectivamente. Nesse sentido, pode-se concluir que estes resultados trazem evidências de que a técnica implementada é eficiente para modelar dados com estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1, pois forneceu boas estimativas não enviesadas para o conjunto dos dados simulados.

Tabela 4.11: EMV e seus respectivos IC bootstrap para o modelo de Von Bertalanffy.

	Parâmetros	EMV(IC 95%)	EQM	Viés
$\rho = 0,10$	a	5,27(5,210;5,357)	1,201	0,033
	c	1,39(1,357; 1,917)	0,902	0,014
	k	3,16(3,153;3,210)	0,300	0,019
	$\sigma^2$	3,38 (3,324;3,490)	0,401	0,043
	$\theta$	1,70(1,231;1,790)	0,990	0,010
$\rho = 0,50$	a	5,11(5,285;5,502)	1,108	0,034
	c	0,87(0,746;0,888)	0,088	0,018
	k	3,05(3,010;3,185)	0,374	0,012
	$\sigma^2$	3,19(3,301;3,401)	0,420	0,025
	$\theta$	1,62(1,213;1,682)	0,945	0,213
$\rho = 0,70$	a	4,99(4,871;5,316)	1,140	0,107
	c	0,91(0,621;0,987)	0,893	0,059
	k	2,96(2,891;3,079)	0,252	0,046
	$\sigma^2$	3,26(3,163;3,476)	0,506	0,081
	$\theta$	1,59(1,215;1,652)	1,041	0,232

# Capítulo 5

## Conclusão e discussão

Neste trabalho, foram implementados métodos de estimação não linear de quatro modelos de crescimento (Brody, Gompertz, Logístico e Von Bertalanffy), com as estruturas de covariância homocedástica com autocorrelação lag 1 e a heterocedástica multiplicativa, e erros com distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada.

A metodologia proposta foi baseada no procedimento de estimação por máxima verossimilhança com construção de intervalos de previsão bootstrap não paramétrico. A aplicação buscou, mediante o ajuste desses modelos, descrever todo o comportamento do ventrículo esquerdo, durante o processo de remodelação cardíaca.

Durante o processo de desenvolvimento do modelo, muitas dificuldades foram encontradas, tais como a escolha das condições iniciais e de convergência que podem ser atribuídas ao grande número de parâmetros a serem estimados e ao dimensionamento amostral (pequenas amostras). Além disso, muitos modelos tenderam a subestimar os valores iniciais e finais da TD.

Os resultados das estruturas dos modelos analisados permitem observar que o modelo homocedástico com autocorrelação lag 1 foi o mais eficaz no tratamento dos conjuntos de dados analisados, pois forneceu estimativas e intervalos de confiança bootstrap estatisticamente significante com adequada interpretação biológica dos parâmetros. Os avaliadores da qualidade do ajuste dos modelos decidiram a favor do modelo Von Bertalanffy para os grupos que passaram pelo procedimento de indução da estenose aórtica supralvar (EAo) e do modelo Brody para os demais grupos analisados.

Os modelos ajustados corroboram com os resultados encontrados para esse experimento por Campos [2014]. Todavia, há que se considerar que a metodologia empregada por este autor e outros que realizam pesquisa de remodelação cardíaca, ficou limitada à comparação dos vetores médios de respostas das sete concentrações de cálcio utilizadas, isto é, análises realizadas por meio de técnicas multivariadas de modelos com medidas repetidas em grupos independentes, comparadas por meio do teste de comparações

múltiplas de médias de Bonferroni. Embora o procedimento esteja corretamente aplicado, restringe-se a conclusões fragmentadas do vetor da resposta da TD.

Ademais, vale ressaltar que desta maneira a metodologia tradicional descuidava-se fortemente da variabilidade residual acumulada a cada nova dose administrada ao analisar a TD de forma fracionada, sem levar em consideração a presença da dependência contida na informação biológica ao longo de todo o experimento. Contudo, embora por procedimentos distintos, há certa concordância nos resultados obtidos, destacando-se o que mostra que as dietas utilizadas não promovem alterações na função miocárdica e que todas as alterações foram dependentes das manobras de doses de cálcio administradas.

A implementação da metodologia estatística utilizada na presente pesquisa promoveu um indicativo interessante e diferenciado em relação ao Campos [2014], no qual o modelo funcional de resposta da estenose em relação à dose, independentemente da dieta utilizada, consiste numa expressão matemática distinta da EAo em confronto com o controle (SHAM), que leva em consideração a possível agressão da indução da estenose no animal, refletindo na mudança da expressão matemática do modelo.

A necessidade de mudança de modelo torna-se evidente diante da sensível variação na velocidade de crescimento (derivada primeira) e pela atenuação da desaceleração mostrada pela derivada segunda da TD em função da dose, independente da dieta administrada. Ou seja, a mudança do modelo se deu pelo fato de que no grupo EAo, quanto mais lento o crescimento da TD, pior a função cardíaca do animal, pois, para cada unidade de variação requerida pelo modelo Brody, têm-se três unidades de variação no modelo de Von Bertalanffy. Essa situação torna-se evidente nos dados pela antecipação da saturação de cálcio nos animais.

Um fato não configurado na revisão bibliográfica do ajuste dos modelos da remodelação cardíaca é que sob o ponto de vista biológico, a introdução de modelos não convencionais (não linearizáveis), destacou-se por captar toda a estrutura longitudinal da variabilidade da TD, considerando o animal como todo, desde o nível mais baixo até o nível mais elevado da dose de cálcio.

Outro ponto importante no modelo homocedástico com autocorrelação lag 1 são os resultados dos dados simulados. No qual, por meio dos critérios de seleção do modelo e proximidade entre os parâmetros reais e estimados foi possível comprovar a performance eficiente dos modelos implementados.

Um aspecto interessante e motivador para ser utilizado em outras pesquisas, consiste no uso da distribuição normal  $\theta$  generalizada multivariada na área da saúde por apresentar o terceiro parâmetro referente a forma  $\theta$ , o qual possibilita modelar as respostas de diversos comportamentos dos conjuntos de dados simétricos com diferentes formas de achatamento (leptocúrtica, mesocúrtica e platicúrtica). Assim, considerando

essa premissa, pode-se destacar a presente metodologia como uma opção de estrutura de variabilidade dos dados, pioneira no uso de um parâmetro a mais, que pode ser utilizado em quaisquer circunstâncias das áreas das ciências biológicas e da saúde para um modelo que apresente um bom indicativo de resposta para dados com estrutura longitudinal.

Quando considera-se a presença da heterocedasticidade no tratamento dos dados, pode-se observar por meio dos intervalos de confiança bootstrap, que muitos parâmetros não foram significantes. Esse fato pode ser explicado, tendo em vista que, a premissa da natureza biológica da amostra sustenta a baixa variabilidade e a autocorrelação nos dados. No entanto, este problema também pode ser atribuído à limitação da teoria assintótica em estimar um elevado número de parâmetros proveniente de pequenas amostras.

Mediante a esse cenário, constatou-se que entre todos os modelos avaliados, a estrutura homocedástica com autocorrelação lag 1, promoveu um ajuste satisfatório que foi capaz de captar toda a estrutura longitudinal exigida pela natureza dos dados, o qual forneceu estimativas consistentes para o entendimento da TD em função das doses administradas.

Por fim, como proposta para futuros trabalhos, pode se adotar outros modelos de crescimento e utilizar a abordagem bayesiana para realizar comparações com presente estudo, além disso, pode-se considerar outras distribuições para os erros desses modelos.

# Referências

- H. Akaike. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 6:716–723, 1974.
- M. T. R. Amaral. *Abordagem bayesiana para curvas de crescimento com restrições nos parâmetros*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2009.
- Inder S Anand et al. Noninvasive assessment of left ventricular remodeling: concepts, techniques, and implications for clinical trials. *Journal of Cardiac Failure*, 8(6):S452–S464, 2002.
- Paula S Azevedo et al. Remodelação cardíaca: Conceitos, impacto clínico, mecanismos fisiopatológicos e tratamento farmacológico. *Arq. Bras. Cardiol*, 106(1):62–69, 2015.
- Douglas M Bates and Donald G Watts. Nonlinear regression: iterative estimation and linear approximations. *Nonlinear Regression Analysis and its Applications*, 1:32–66, 1988.
- M. O. Boluyt et al. The ageing spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from stable compensated hypertrophy to heart failure. *European Heart Journal*, 16 (suppl N):19–30, 1995.
- George EP Box and George C Tiao. A further look at robustness via bayes’s theorem. *Biometrika*, 49(3/4):419–432, 1962.
- Edson Antonio Bregagnollo et al. Papel relativo da remodelação geométrica do ventrículo esquerdo, morfológica e funcional do miocárdio na transição da hipertrofia compensada para a falência cardíaca em ratos com estenose aórtica supralvar. *Arq Bras Cardiol*, 88(2):225–233, 2007.
- JE Brown et al. A comparison of nonlinear models for describing weight-age relationships in cattle. *Journal of Animal Science*, 42(4):810–818, 1976.

- Aline Minniti de Campos. *Uma abordagem bayesiana para modelos não lineares na presença de assimetria e heteroscedasticidade*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2011.
- Dijon Henrique Salomé de Campos. *Influência da oxidação de glicose sobre a função miocárdica de ratos obesos*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2010.
- Dijon Henrique Salomé de Campos. *Influência da dieta hiperlipídica ricas em ácidos graxos saturados sobre o metabolismo, estrutura e função cardíaca de ratos com estenose aórtica supralvalvar*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2014.
- Elliott JF Cantor et al. A comparative serial echocardiographic analysis of cardiac structure and function in rats subjected to pressure or volume overload. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 38(5):777–786, 2005.
- Marisa Capela Veiga et al. Comparação do ajuste dos modelos de morgan-mercator-flodin e de johnson-mehl-avrami na reação de precipitação na liga cu-3% al-5% ag. *Eclética Química*, 1:197–207, 2001.
- Ngan Hang Chan. *Time series applications to finance with R and S-plus*, volume 837. John Wiley e Sons, INC., New Jersey, second edition, 2002.
- Antonio Carlos Cicogna et al. História natural da remodelação miocárdica: da agressão aos sintomas. *Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo*, 10:8–16, 2000.
- John H Cochrane. Time series for macroeconomics and finance. *Manuscript, University of Chicago*, 2005.
- Jay N Cohn et al. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(3):569–582, 2000.
- R Dennis Cook and S. Weissberg. Diagnostics for heteroscedasticity in regression. *Biometrika*, 70(1):1–10, 1983.
- Martin J Crowder and David J Hand. *Analysis of repeated measures*, volume 41. CRC Press, New York, third edition, 1990.
- FJA Cysneiros et al. Corrected maximum likelihood estimators in heteroscedastic symmetric nonlinear models. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 80(4): 451–461, 2010.

- Victor Davila. Introdução às séries temporais. *Manuscrito, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-São Paulo-Brasil*, 2015.
- Carlos Alberto Ribeiro Diniz et al. Heteroscedastic von bertalanffy growth model and an application to a kubbard female chicken corporeal weight growth data. *Adv. Appl. Stat*, 15:71–81, 2010.
- María Durbán et al. Simple fitting of subject-specific curves for longitudinal data. *Statistics in Medicine*, 24(8):1153–1167, 2005.
- Bradley Efron and R.J. Tibshirani. *An introduction to bootstrap*. Chapman and Hall, 1 edition, 1994. ISBN 9780412042317,0-412-04231-2. URL <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=BF16596F119E917AD6501BF994E30C9E>.
- Ricardo S Ehlers. Análise de séries temporais. *Manuscrito, Universidade Federal do Paraná*, 2007.
- Paula Paccielli Freire et al. Obesidade não acarreta desequilíbrio entre fosforilação e desfosforilação da fosfolambam miocárdica. *Arq Bras Cardiol*, 103(1):41–50, 2014.
- Himadri Ghosh and MA Iquebal. Bootstrap study of parameter estimates for nonlinear richards growth model through genetic algorithm. *Journal of Applied Statistics*, 38(3): 491–500, 2011.
- Herbert Glejser. A new test for heteroskedasticity. *Journal of the American Statistical Association*, 64(325):316–323, 1969.
- Stephen M Goldfeld et al. Nonlinear methods in econometrics. 1(4):399–401, 1973.
- Irwin R Goodman and Samuel Kotz. Multivariate  $\theta$ -generalized normal distributions. *Journal of Multivariate Analysis*, 3(2):204–219, 1973.
- Andrew C Harvey. Estimating regression models with multiplicative heteroscedasticity. *Econometrica: Journal of the Econometric Society*, 44(3):461–465, 1976.
- Lisiane Hauser et al. Curva de crescimento usando modelo misto: Uma aplicação na progressão da doença de machado-joseph. *Clinical & Biomedical Research*, 29(1), 2009.
- A.R. Joel et al. Estimating regression models with multiplicative heteroscedasticity. *Ciência Rural*, 35(2):461–465, 2005.
- Gilberto Kac et al. *Epidemiologia nutricional*. SCIELO-Editora FIOCRUZ, 2007.



- Azme Khamis et al. Nonlinear growth models for modeling oil palm yield growth. *Journal of Mathematics and Statistics*, 1(3):225–233, 2005.
- Erwin Kreyszig. *Advanced engineering mathematics*, volume 1. John Wiley & Sons, 2010.
- Jin-Guan Lin and B. C Wei. Testing for heteroscedasticity in nonlinear regression models. *Communications in Statistics-Theory and Methods*, 32(1):171–192, 2003.
- Francisco Louzada et al. Skew-normal distribution for growth curve models in presence of a heteroscedasticity structure. *Journal of Applied Statistics*, 6:37–41, 2015.
- A Ludwig. *Ajustamento de curvas exponenciais ao crescimento de gado Nelore e análise de seus parâmetros*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Vicososa – MG, 1977.
- Euclides Braga Malheiros. Precisão da análise de dados longitudinais, com diferentes estruturas para a matriz de variâncias e covariâncias, quando se utiliza o esquema em parcelas subdivididas. *Revista de Matematica e Estatística*, (17):263–273, 1999.
- Fernando Martins et al. Dieta hiperlipídica promove remodelação cardíaca em modelo experimental de obesidade. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia (Impresso)*, 105(1): 479–486, 2015.
- Ana Rita de Assumpção Mazzini. *Análise da curva de crescimento de machos Hereford considerando heterogeneidade de variâncias e autocorrelação dos erros*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2001.
- Olga de Castro Mendes et al. Remodelamento cardíaco: análise seriada e índices de detecção precoce de disfunção ventricular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, (1): 62–70, 2010.
- MA Mestrinel. *Avaliação morfológica, bioquímica e funcional do remodelamento cardíaco desencadeado por sobrecarga pressórica em ratos com e sem insuficiência cardíaca congestiva*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2003.
- Vanessa de Oliveira Moreira. *A administração de GH atenua o desenvolvimento de fibrose miocárdica em ratos com insuficiência cardíaca secundária a estenose aórtica*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2006.
- Thiago Bruder Nascimento et al. Alterações vasculares em ratos obesos por dieta rica em gordura: papel da via l-arginina/no endotelial. *Arq Bras Cardiol*, 97(1):40–5, 2011.

- Paulo Roberto C Nobre et al. Curvas de crescimento de gado nelore ajustadas para diferentes frequências de pesagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22(09/10):1027–1037, 1987.
- Claudia Cristina Paro Paz. *Associação entre polimorfismos genéticos e parâmetros da curva de crescimento em bovinos de corte*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 2002.
- R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2009. URL <http://www.R-project.org>. ISBN 3-900051-07-0.
- David A Ratkowsky. *Handbook of Nonlinear regression modeling.*, volume 1. Dekker, New York., 1990.
- Márcia Ruggiero and Vera L Lopes. *Cálculo numérico: aspectos teóricos e computacionais*, volume 1. Makron Books do Brasil, second edition, 1988.
- G. Schwarz. Estimating the dimension of a model. *Annals of Statistics*, 6(2):461–464, 1978.
- Iábita Fabiana Sousa et al. Fitting nonlinear autoregressive models to describe coffee seed germination. *Ciência Rural*, 44(11):2016–2021, 2014.
- Ana Lucia Souza Brandão. *Modelos não-lineares para análise de dados longitudinais*. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura, USP, Piracicaba– SP, 1996.
- Mario Mateus Sugizaki et al. Severe food restriction induces myocardial dysfunction related to serca2 activity. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 87(9): 666–673, 2009.
- Bernard Swynghedauw. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiological Reviews*, 79(1):215–262, 1999.
- Nobuaki Tanaka et al. Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation*, 94(5):1109–1117, 1996.
- Luís Orlindo Tedeschi et al. Estudo da curva de crescimento de animais da raça guzerá e seus cruzamentos alimentados a pasto, com e sem suplementação. 1. análise e seleção das funções não-lineares. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(2):630–637, 2000.
- Geeta D Thakker et al. Effects of diet-induced obesity on inflammation and remodeling after myocardial infarction. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 60(5):H2504, 2006.

- GC Tiao and D.R. Lund. The use of olumv estimators in inference robustness studies of the location parameter of a class of symmetric distributions. *Journal of the American Statistical Association*, 65(329):370–386, 1970.
- Clara Matiko Ueda et al. *Modelos não lineares com diferentes estruturas de covariância em curvas de crescimento: uma aplicação no estudo da severidade da doença Late blight*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, 2003.
- RC Veloso et al. Seleção e classificação multivariada de modelos não lineares para frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 68(1):191–200, 2016.
- Danielle Fernandes Vileigas. *Influência da obesidade induzida por dieta hiperlipídica saturada sobre o comportamento da via beta-adrenérgica miocárdica em ratos Wistar*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2015.
- Z Wang and M. Zuidhof. Estimation of growth parameters using a nonlinear mixed gompertz model. *Poultry science*, 83(6):847–852, 2004.

# Apêndice A

## Perfil de ácidos graxos

Tabela A.1: Perfil de ácidos graxos (%) das dietas normolipídicas e hiperlipídicas.

Ácidos graxos	Dietas	
	Normolipídica	Hiperlipídica
Capróico (c6:0)	0,11	0,13
Caprílico (c8:0)	1,99	2,18
Cáprico (c10:0)	2,12	2,32
Undecanoico (c11:0)	0,02	0,02
Láurico (c12:0)	30,81	33,73
Tridecanoico (c13:0)	0,04	0,04
Mirístico (c14:0)	11,06	12,10
Pentadecanoico (c15:0)	0,01	0,00
Palmítico (c16:0)	11,95	11,18
Heptadecanoico (c17:0)	0,04	0,02
Esteárico (c18:0)	2,89	2,66
Araquídico (c20:0)	0,24	0,22
Behênico (c22:0)	0,12	0,12
Tricosanoico (c23:0)	0,02	0,01
Lignocérico (c24:0)	0,08	0,07
Palmitoléico (c16:1)	0,04	0,02
Heptadecenoico (c17:1)	0,02	0,01
Oléico (c18:1n9c)	19,48	20,71
Cis-vacênico (c18:1n7)	0,49	0,33
Linoléico (c18:2n6c)	16,69	12,95
$\alpha$ -Linolênico (c18:3n3)	1,67	1,05
Eicosanoico (c20:1n9)	0,10	0,11
Ácidos Graxos Saturados	61,52	64,81
Ácidos Graxos Insaturados	38,48	35,19

## Apêndice B

# Distribuição de Laplace e Normal a partir da normal $\theta$ generalizada

Seja  $f(y)$  a distribuição normal  $\theta$  generalizada univariada definida no capítulo 3.3.

$$f(y; \mu, \sigma, \theta) = \frac{1}{2\sigma\Gamma\left(1 + \left(\frac{1}{\theta}\right)\right)} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|^\theta\right\},$$

em que,  $-\infty < y < \infty$ ,  $\mu$  (localização),  $\sigma$  (escala/dispersão) e  $\theta$  (forma). Para  $\theta = 1$ ,

$$f(y; \mu, \sigma, 1) = \frac{1}{2\sigma\Gamma(2)} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|\right\}.$$

$$f(y; \mu, \sigma) = \frac{1}{2\sigma} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|\right\}.$$

tem-se a distribuição de Laplace  $(\mu, \sigma)$ . Para  $\theta = 2$ ,

$$f\left(y; \mu, \frac{\sigma^2}{2}, 2\right) = \frac{1}{2\sigma\Gamma\left(1 + \left(\frac{1}{2}\right)\right)} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|^2\right\}.$$

Como  $\Gamma\left(1 + \frac{1}{2}\right) = \frac{1}{2}\Gamma\left(\frac{1}{2}\right) = \frac{1}{2}\sqrt{\pi}$ , então

$$f\left(y; \mu, \frac{\sigma^2}{2}\right) = \frac{1}{\sigma\sqrt{\pi}} \exp\left\{-\left|\left(\frac{y - \mu}{\sigma}\right)\right|^2\right\}.$$

Sob essas considerações, encontra-se a distribuição Normal  $(\mu, \frac{\sigma^2}{2})$

# Apêndice C

## Cálculo das derivadas

A seguir, têm-se as derivadas parciais necessárias para obtenção dos estimadores de máxima verossimilhança para os diferentes modelos. Contudo, note que:

$$- \sum_{j=1}^T \left| \sum_{l=1}^T C^{jl} (\mathbf{Y}_{il} - \mathbf{h}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{t})_{il}) \right|^\theta,$$

então:

$$\begin{cases} \mathbf{h}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{t})_{il} - \mathbf{Y}_{il} & \text{se } Y_{il} < h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il} \\ \mathbf{Y}_{il} - \mathbf{h}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{t})_{il} & \text{se } Y_{il} \geq h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il} \end{cases}.$$

Substituindo  $\mathbf{h}(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{t})_{il}$  de cada modelo em (3.12), podemos implementar as derivadas parciais para cada parâmetro.

### Modelo Brody

Primeira derivada dos parâmetros.

$$\frac{\partial \log L}{\partial a} = \sum_{j=1}^T \left\{ \begin{aligned} & \sum_{Y_{il} \geq h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-1} (1 - ce^{-kt}) \\ & - \sum_{Y_{il} < h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-1} (1 - ce^{-kt}) \end{aligned} \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial c} = \sum_{j=1}^T \left\{ \begin{aligned} & \sum_{Y_{il} \geq h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-1} (ae^{-kt}) \\ & - \sum_{Y_{il} < h(\boldsymbol{\beta}, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-1} (ae^{-kt}) \end{aligned} \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial k} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-1} (acte^{-kt}) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-1} (acte^{-kt}) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial c} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-1} (ae^{-kt}) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-1} (ae^{-kt}) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial \theta} = \frac{2^{-T} T \psi^0(1 + \frac{1}{\theta}) \Gamma(1 + \frac{1}{\theta})^{-t}}{C^{jl} \theta^2} \\ + \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta} \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta} \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})) \right\}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  é uma digama.

**Segunda derivada dos parâmetros.**

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial a^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta(\theta - 1) C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-2} (1 - ce^{-kt})^2 \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-2} (1 - ce^{-kt})^2 \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial c^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-2} (ae^{-kt})^2 \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-2} (ae^{-kt})^2 \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial k^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} [-(\theta - 1)(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-2} (acte^{-kt})^2 - (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^{\theta-1} (act^2 e^{-kt})] - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} [(\theta - 1)a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il}]^{\theta-2} (acte^{-kt})^2 - (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^{\theta-1} (act^2 e^{-kt})] \right\}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial \theta^2} &= 2^{-T} C^{jl} T \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \Gamma \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \left( \frac{T\psi^{(0)} \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) - \psi^{(1)}}{\theta^4} - \frac{2\psi^{(0)}}{\theta^3} \right) \\ &+ \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt}))^\theta \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})) - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt}) - Y_{il})^\theta \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})) \right\} \end{aligned}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  e  $\psi^{(1)}$  é uma digama e trigama respectivamente.

## Modelo Gompertz

$$\frac{\partial \log L}{\partial a} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-1} (ce^{-kt}) - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-1} (ce^{-kt}) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial c} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-1} (ae^{-kt} e^{ce^{-kt}}) - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-1} (ae^{-kt} e^{ce^{-kt}}) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial k} = \sum_{i=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-1} (-acte^{-kce^{-kt}}) - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-1} (-acte^{-kce^{-kt}}) \right\}$$



$$\begin{aligned} \frac{\partial \log L}{\partial \theta} &= \frac{2^{-T} T \psi^0(1 + \frac{1}{\theta}) \Gamma(1 + \frac{1}{\theta})^{-t}}{C^{jl} \theta^2} \\ &+ \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^\theta \ln(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}}) \right. \\ &\left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^\theta \ln(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}}) \right\} \end{aligned}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  é uma digama.

**Segunda derivada dos parâmetros.**

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial a^2} &= \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta(\theta - 1) C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-2} e^{ce^{-kt}} (ce^{-kt}) \right. \\ &\left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-2} e^{ce^{-kt}} (ce^{-kt}) \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial c^2} &= \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} [(\theta - 1)(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-2} (ae^{-kt+ce^{-kt}})(ae^{ce^{-kt}-kt}) \right. \\ &\quad \left. + (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-1} (ae^{-2kt+ce^{-kt}})] \right. \\ &\left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} [(\theta - 1)(ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-2} (ae^{-kt+ce^{-kt}})(ae^{ce^{-kt}-kt}) \right. \\ &\quad \left. + (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-1} (ae^{-2kt+ce^{-kt}})] \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial k^2} &= \sum_{i=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} [-(\theta - 1)(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-2} ((act)^2 e^{ce^{-kt}-kt-kce^{-kt}}) \right. \\ &\quad \left. + (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^{\theta-1} (acte^{-kce^{-kt}} (ce^{-kt} - ktce^{-kt}))] - \right. \\ &\quad \left. \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} [(\theta - 1)(ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-2} ((act)^2 e^{ce^{-kt}-kt-kce^{-kt}}) \right. \\ &\quad \left. + (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^{\theta-1} (acte^{-kce^{-kt}} (ce^{-kt} - ktce^{-kt}))] \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial \theta^2} &= 2^{-T} C^{jl} T \left(1 + \frac{1}{\theta}\right) \Gamma \left(1 + \frac{1}{\theta}\right) \left( \frac{T \psi^{(0)} \left(1 + \frac{1}{\theta}\right) - \psi^{(1)}}{\theta^4} - \frac{2\psi^{(0)}}{\theta^3} \right) \\ &+ \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - ae^{ce^{-kt}})^\theta \ln^2(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}}) \right. \\ &\left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (ae^{ce^{-kt}} - Y_{il})^\theta \ln^2(Y_{il} - ae^{ce^{-kt}}) \right\} \end{aligned}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  e  $\psi^{(1)}$  é uma digama e trigama respectivamente.

## Logístico

$$\frac{\partial \log L}{\partial a} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-1} (1 - ce^{-kt})^{-1} \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-1} (1 - ce^{-kt})^{-1} \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial c} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-1} ae^{-kt} \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-1} ae^{-kt} \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial k} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-1} acte^{-kt} \right. \\ \left. + \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-1} acte^{-kt} \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial \theta} = \frac{2^{-T} T \psi^0(1 + \frac{1}{\theta}) \Gamma(1 + \frac{1}{\theta})^{-t}}{C^{jl} \theta^2} \\ + \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta} \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1}) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta} \ln(a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il}) \right\}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  é uma digama.

**Segunda derivada dos parâmetros.**

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial a^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-2} (1 - ce^{-kt})^{-2} \right. \\ \left. + \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta(\theta - 1) C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-2} (1 - ce^{-kt})^{-2} \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial c^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} [(\theta - 1)(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-2} (ae^{-kt})^2] \right. \\ \left. + \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1)(a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-2} (ae^{-kt})^2 \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial k^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} [(\theta - 1)(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-2} (acte^{-kt})^2] \right. \\ - (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^{\theta-1} act^2 e^{-kt} \\ + \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} -\theta C^{jl} [(\theta - 1)(a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{-1}]^{\theta-2} (acte^{-kt})^2 \\ \left. + (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^{\theta-1} act^2 e^{-kt} \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial \theta^2} = 2^{-T} C^{jl} T \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \Gamma \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \left( \frac{T\psi^{(0)} \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) - \psi^{(1)}}{\theta^4} - \frac{2\psi^{(0)}}{\theta^3} \right) \\ + \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1})^\theta \ln^2(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1}) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^{-1} - Y_{il})^\theta \ln^2(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^{-1}) \right\}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  e  $\psi^{(1)}$  é uma digama e trigama respectivamente.

## Von Bertalanfy

$$\frac{\partial \log L}{\partial a} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-1} (1 - ce^{-kt})^3 \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-1} (1 - ce^{-kt})^3 \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial c} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-1} (-3ae^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) \right. \\ \left. + \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-1} (3ae^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial k} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-1} (3acte^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-1} (3acte^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial \theta} = \frac{2^{-T} T \psi^0(1 + \frac{1}{\theta}) \Gamma(1 + \frac{1}{\theta})^{-t}}{C^{jl} \theta^2} \\ + \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta} \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta} \ln(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3) \right\}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  é uma digama.

**Segunda derivada dos parâmetros.**

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial a^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1) (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-2} ((1 - ce^{-kt})^3)^2 \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1) (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-2} ((1 - ce^{-kt})^3)^2 \right\}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial c^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1) (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-2} (3ae^{-kt}(1 - ce^{-kt})^4) \right. \\ \left. + (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-1} 6a(e^{-kt})^2 (1 - ce^{-kt}) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1) (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-2} (3ae^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) \right. \\ \left. + (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-1} 6a(e^{-kt})^2 (1 - ce^{-kt})^2 \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log L}{\partial k^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} \theta C^{jl} (\theta - 1) (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-2} 3(1 - ce^{-kt})^2 cte^{-kt} \right. \\ \left. 3acte^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) + (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^{\theta-1} \right. \\ \left. - 3act^2e^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2 6a(cte^{-kt})^2 2(1 - ce^{-kt}) \right. \\ \left. \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} + \theta C^{jl} (\theta - 1) (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-2} 3(1 - ce^{-kt})^2 cte^{-kt} \right. \\ \left. 3acte^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2) + (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^{\theta-1} \right. \\ \left. - 3act^2e^{-kt}(1 - ce^{-kt})^2 6a(cte^{-kt})^2 2(1 - ce^{-kt}) \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \log}{\partial \theta^2} = 2^{-T} C^{jl} T \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \Gamma \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) \left( \frac{T\psi^{(0)} \left( 1 + \frac{1}{\theta} \right) - \psi^{(1)}}{\theta^4} - \frac{2\psi^{(0)}}{\theta^3} \right) \\ + \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3)^\theta \ln^2(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3) \right. \\ \left. - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} C^{jl} (a(1 - ce^{-kt})^3 - Y_{il})^\theta \ln^2(Y_{il} - a(1 - ce^{-kt})^3) \right\} \end{aligned}$$

Em que  $\psi^{(0)}$  e  $\psi^{(1)}$  é uma digama e trigama respectivamente.

A primeira derivada parcial de  $\sigma^2$  e dos parâmetros das matrizes homocedástica  $\rho$  e heterocedástica  $\lambda$ .

$$\frac{\partial \log L}{\partial \sigma} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_\sigma^{jl'} (Y_{il} - \mu)^\theta - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_\sigma^{jl'} (\mu - Y_{il})^\theta \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial \lambda} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_\lambda^{jl'} (Y_{il} - \mu)^\theta - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_\lambda^{jl'} (\mu - Y_{il})^\theta \right\}$$

$$\frac{\partial \log L}{\partial \rho} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_{\rho}^{j'l'} (Y_{il} - \mu)^{\theta} - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_{\rho}^{j'l'} (\mu - Y_{il})^{\theta} \right\}$$

A segunda derivada parcial de  $\sigma^2$  e dos parâmetros das matrizes homocedástica  $\rho$  e heterocedástica  $\lambda$ .

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial \sigma^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_{\sigma}^{j'l''} (Y_{il} - \mu)^{\theta} - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_{\sigma}^{j'l''} (\mu - Y_{il})^{\theta} \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial \lambda^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_{\lambda}^{j'l'''} (Y_{il} - \mu)^{\theta} - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_{\lambda}^{j'l'''} (\mu - Y_{il})^{\theta} \right\}$$

$$\frac{\partial^2 \log L}{\partial \rho^2} = \sum_{j=1}^T \left\{ \sum_{Y_{il} \geq h(\beta, t)_{il}} C_{\rho}^{j'l'''} (Y_{il} - \mu)^{\theta} - \sum_{Y_{il} < h(\beta, t)_{il}} \theta C_{\rho}^{j'l'''} (\mu - Y_{il})^{\theta} \right\}$$

Em que  $\mu$  expressa os quatro modelos não lineares.

# Apêndice D

## Teste de assimetria e curtose

Tabela D.1: Resultado do teste de assimetria e curtose da TD do grupo SHAM de acordo com a dieta e níveis de cálcio.

Dieta	Doses de cálcio	Medidas Descritivas			
		Assimetria	Valor p	Curtose	Valor p
Norm	0,5	-0,11	0,591	-1,35	0,999
	1,0	-0,11	0,584	-1,23	0,999
	1,5	-0,09	0,569	-1,20	0,999
	2,0	-0,04	0,536	-1,22	0,999
	2,5	-0,01	0,505	-1,28	0,999
	3,0	0,06	0,452	-1,32	0,999
	3,5	0,05	0,454	-1,34	0,999
	Hiper	0,5	1,00	0,026	0,37
1,0		0,85	0,046	0,00	0,997
1,5		0,54	0,141	-0,39	0,998
2,0		0,35	0,238	-0,55	0,999
2,5		0,09	0,425	-0,79	0,999
3,0		-0,01	0,508	-0,98	0,999
3,5		-0,06	0,546	-1,09	0,999



Tabela D.2: Resultado do teste de assimetria e curtose da TD do grupo EAo de acordo com a dieta e níveis de cálcio.

Dieta	Doses de cálcio	Medidas Descritivas			
		Assimetria	Valor p	Curtose	Valor p
Norm	0,5	-0,14	0,605	-1,00	0,999
	1,0	-0,07	0,551	-0,55	0,998
	1,5	0,22	0,338	-0,57	0,998
	2,0	0,46	0,191	-0,33	0,997
	2,5	0,35	0,255	-0,34	0,997
	3,0	0,27	0,299	-0,58	0,998
	3,5	0,26	0,308	-1,00	0,999
Hiper	0,5	0,35	0,246	-0,50	0,999
	1,0	0,07	0,442	-0,84	0,999
	1,5	-0,00	0,503	-0,86	0,999
	2,0	-0,02	0,521	-1,03	0,999
	2,5	-0,05	0,538	-0,84	0,999
	3,0	-0,19	0,650	-0,49	0,999
	3,5	-0,34	0,749	-0,09	0,997

# Apêndice E

## Cálculo das derivadas

A seguir tem-se as derivadas parciais necessárias para obtenção da taxa de crescimento e desaceleração da TD dos modelos selecionados.

### Modelo Brody

Primeira derivada dos parâmetros.

$$\frac{\partial \log \hat{DT}}{\partial x_d} = acke^{-dk}$$

Segunda derivada dos parâmetros.

$$\frac{\partial^2 \log \hat{DT}}{\partial x_d^2} = -ack^2e^{-dk}$$

### Modelo Von Bertalanffy

Primeira derivada dos parâmetros.

$$\frac{\partial \log \hat{DT}}{\partial x_d} = 3acke^{-dk}(1 - ce^{-dk})^2$$

Segunda derivada dos parâmetros.

$$\frac{\partial^2 \log \hat{DT}}{\partial x_d^2} = 3ack^2e^{-dk}(1 - ce^{-dk})[2ce^{-dk} - (1 - ce^{-dk})]$$

# Apêndice F

## Programas

### F.1 Matrizes decompostas

```
#####  
#Matriz heterocedástica      #  
#####  
  
H=function(beta) beta[1]^2*diag((1:d)^exp(beta[2])/2)  
  
#####  
#Matriz homocedástica      #  
#####  
  
A=function(beta){  
  M=matrix(0,d,d)  
  L=matrix(0,d,d)  
  for(j in 1:d){  
    for(i in j:d){  
      if(i==j){  
        z1=0  
        if(j>1) z1=sum(L[j,1:(j-1)]^2)  
  
        L[j,j]=sqrt(1-z1)  
      }  
      else{
```

```

                z2=0
                if(j>1) z2=sum(L[i,1:(j-1)]*L[j,1:(j-1)])
L[i,j]=(1/L[j,j])*(beta[1]^(abs(i-j))-z2)
}
}
}
M=beta[2]^2*L
return(L)
}

```

## F.2 Estimação dos parâmetros

```

mloglik=function(beta){
S=matrix(0,ncol=n,nrow=d)
uv=matrix(0,ncol=n,nrow=1)
h=(beta[3]*(1-beta[4]*exp(-beta[5]*D))) #modelos não-linear
for(i in 1:n){
S[,i]=A(beta)%*(Y[,i]-h)
uv[i]=abs(sum(S[,i]))^beta[6]

}
logl<- -n*d*log(2*gamma(1+(1/beta[6]))) -n*log(det(A(beta))) -sum(uv)
return(-logl)
}
x= valores iniciais
res=nlminb(start = x,mloglik,lower=c(0.0001,0.0001,0.0001,0.0001,0.0001,0.0001),
upper=c(Inf,Inf,Inf,Inf,Inf,Inf),control=list(iter.max=1000))

```

### F.3 Bootstrap não paramétrico

```
N=nrow(dados1)
T=length(unique(t))
n=length(y)/T
Y=matrix(c(Animal,t,y),ncol=ncol(dados1))
N.BOOT=5000
Est_BOOT=matrix(0,ncol=6,nrow=N.BOOT)
N.BOOT=10000
for(ii in 1:N.BOOT){
  ind=sort(sample(1:n,n,T))
  DADOS1_BOOT=matrix(0,nrow=N,ncol=ncol(dados1))
  i=j=1
  k=0
  while(i<N){
    DADOS1_BOOT[i:(j*n),]=Y[ind+k,]
    i=i+n
    j=j+1
    k=k+n
  }
  # Procedimento de Estimação
  Est_BOOT[ii,]=res$par
}
IC_BOOT_b1=quantile(Est_BOOT[,1],c(0.025,0.975))
IC_BOOT_b2=quantile(Est_BOOT[,2],c(0.025,0.975))
IC_BOOT_b3=quantile(Est_BOOT[,3],c(0.025,0.975))
IC_BOOT_b4=quantile(Est_BOOT[,4],c(0.025,0.975))
IC_BOOT_b5=quantile(Est_BOOT[,5],c(0.025,0.975))
IC_BOOT_b6=quantile(Est_BOOT[,6],c(0.025,0.975))
```