Analýza dat pro Neurovědy

RNDr. Eva Janoušová

doc. RNDr. Ladislav Dušek, Dr.

Jaro 2014

Blok 4

Jak a kdy použít parametrické a neparametrické testy II.

Osnova

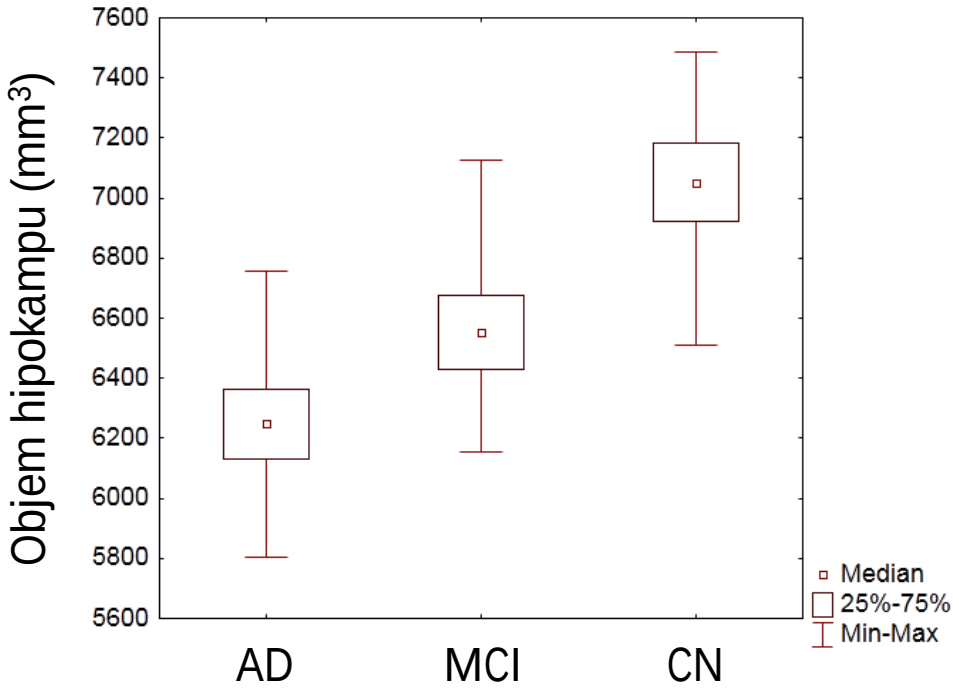
1. Analýza rozptylu (ANOVA)
2. Problém násobného testování hypotéz a použití korekčních procedur
3. Kruskalův-Wallisův test
4. Analýza rozptylu jako lineární model

Parametrické a neparametrické testy pro kvantitativní data – přehled

Typ srovnání	Parametrický test	Neparametrický test
1 skupina dat s referenční hodnotou – jednovýběrové testy:	Jednovýběrový t-test, jednovýběrový z-test	Wilcoxonův test
2 skupiny dat párově – párové testy:	Párový t-test	Wilcoxonův test, znaménkový test
2 skupiny dat nepárově – dvouvýběrové testy:	Dvouvýběrový t-test	Mannův-Whitneyův test, mediánový test
Více skupin nepárově:	**ANOVA**	Kruskalův- Wallisův test

1. Analýza rozptylu (ANOVA)

Motivace



Jak můžeme ověřit, zda se liší objem hipokampu u pacientů s AD, pacientů s MCI a u zdravých kontrol?

A. Můžeme použít vhodný test pro dva výběry (např. dvouvýběrový t-test) a otestovat, jak se liší AD od MCI, AD od CN a MCI od CN – tedy provést 3 testy.

B. Můžeme použít vhodný test pro více než dvě srovnávané skupiny.

V čem je zásadní rozdíl mezi A a B?

Motivace – pokračování

- Problém s možností A je v **násobném testování hypotéz**:

  S narůstajícím počtem testovaných hypotéz nám roste také pravděpodobnost získání falešně pozitivního výsledku, tedy pravděpodobnost toho, že se při našem testování zmýlíme a ukážeme na statisticky významný rozdíl tam, kde ve skutečnosti žádný neexistuje (chyba I. druhu).

- Máme tři testy, v každém 95% pravděpodobnost, že neuděláme chybu I. druhu.
- Pro všechny tři testy to tedy znamená: 0,95 × 0,95 × 0,95 = 0,857.
- Pravděpodobnost, že neuděláme chybu I. druhu nám celkově klesla na 0,857.
- Pravděpodobnost, že uděláme chybu I. druhu nám celkově stoupla na 0,143.

Motivace – pokračování

- Lepší volbou je:

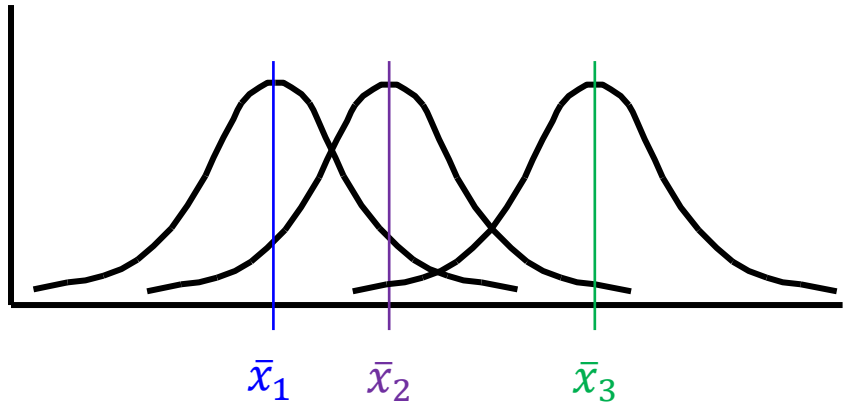
  B. Použít vhodný test pro více než dvě srovnávané skupiny.

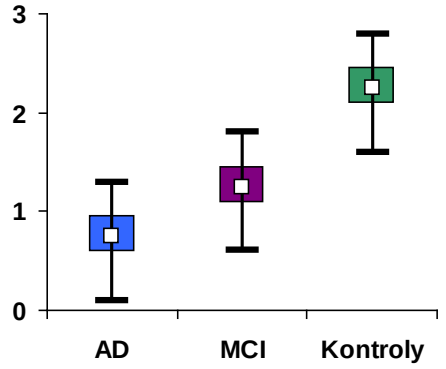
- **Analýza rozptylu (ANOVA = „ANalysis Of VAriance“) je statistickou metodou, která umožňuje testovat rozdíl v průměrech více než dvou skupin. Přitom se jedná o jeden test.**

- Více než dvě skupiny mohou být dány přirozeně (např. sledujeme rozdíl mezi věkovými kategoriemi) nebo uměle (např. sledujeme rozdíl v účinnosti několika typů léčby).

Analýza rozptylu (ANOVA) jednoduchého třídění

- **Srovnáváme tři a více skupin dat, které jsou na sobě nezávislé** (mezi objekty neexistuje vazba).
- Příklady: srovnání objemu hipokampu u pacientů s AD, pacientů s MCI a kontrol; srovnání kognitivního výkonu podle čtyř kategorií věku.

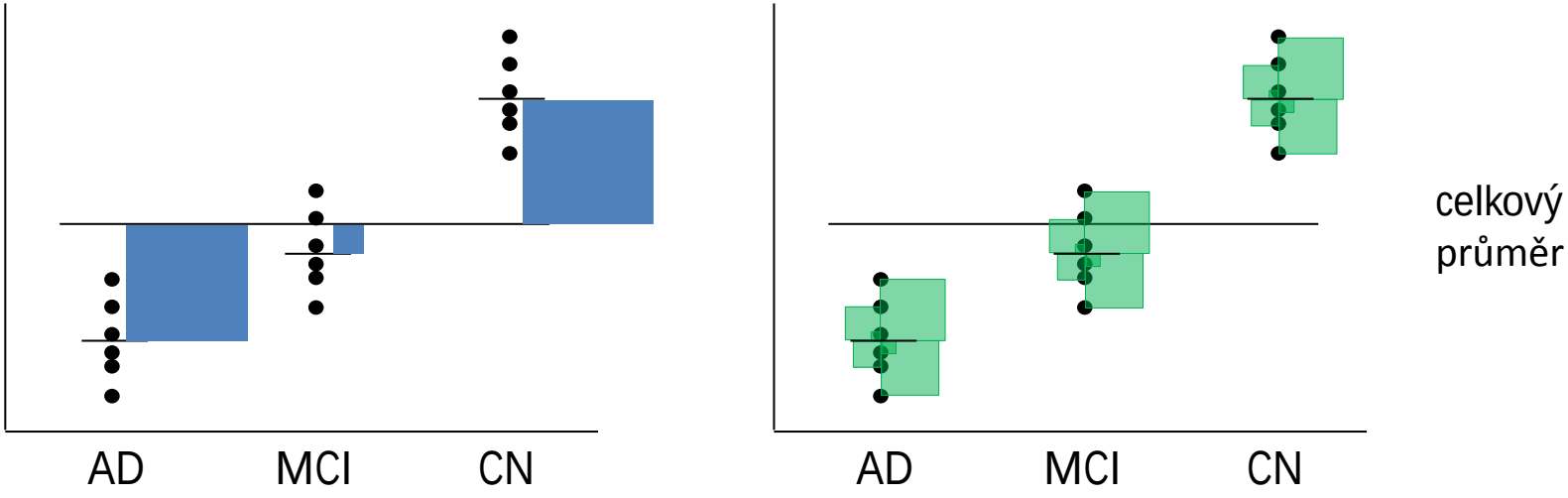




- Předpoklady: **normalita dat ve VŠECH skupinách**, **shodnost (homogenita) rozptylů VŠECH srovnávaných skupin**, nezávislost jednotlivých pozorování.
- Testová statistika: $F = \frac{S_A / df_A}{S_e / df_e}$ - vysvětlení později

Analýza rozptylu (ANOVA) – princip

- Srovnání variability (rozptylu) mezi výběry s variabilitou uvnitř výběrů.

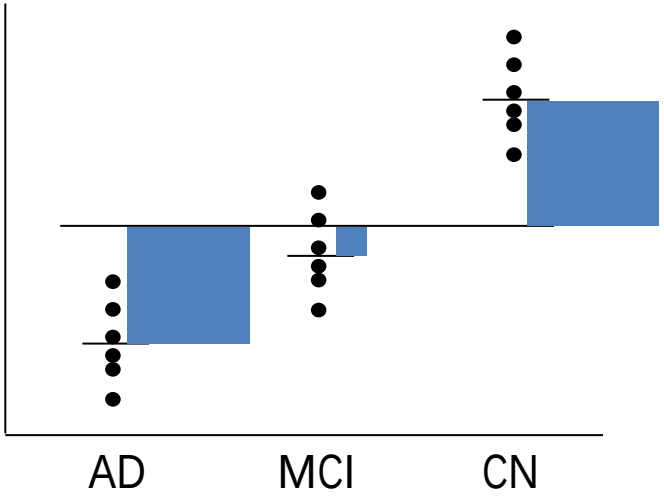


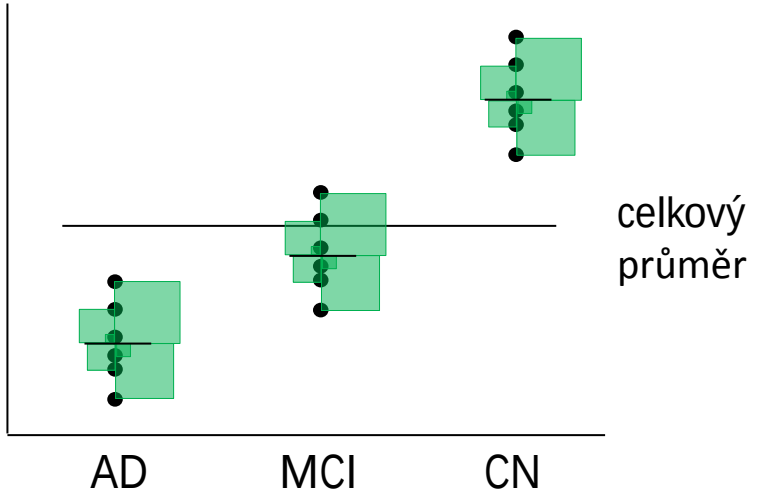
- Tabulka analýzy rozptylu jednoduchého třídění (One-Way ANOVA):

Variabilita	Součet čtverců	Počet stupňů volnosti	Průměrný čtverec	F statistika	p-hodnota
Mezi skupinami	S_A	$df_A = k - 1$	$MS_A = S_A/df_A$	$F = \frac{S_A / df_A}{S_e / df_e}$	p
Uvnitř skupin (reziduální var.)	S_e	$df_e = n - k$	$MS_e = S_e/df_e$		
Celkem	S_T	$df_T = n - 1$			

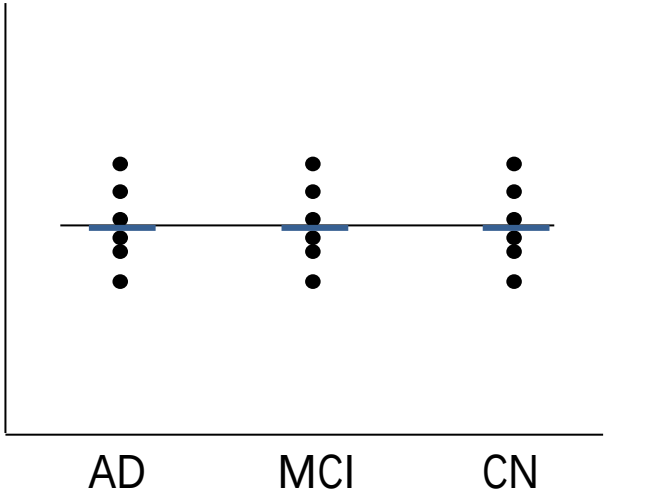
ANOVA – 2 ukázkové situace

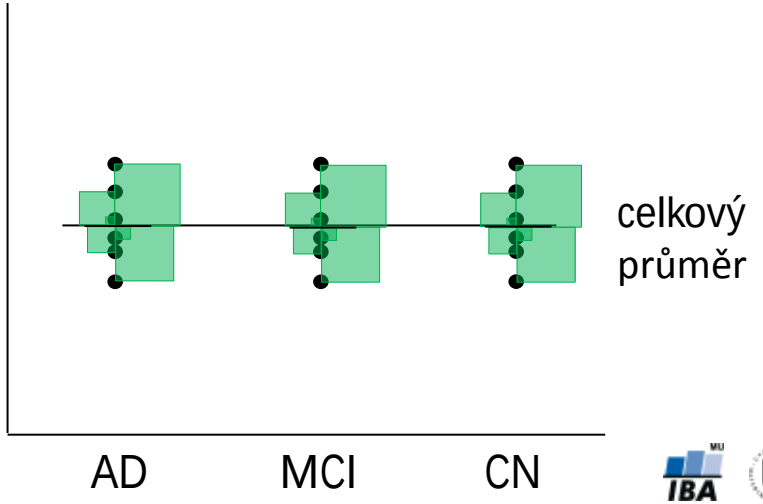
- Rozdíl ve všech třech skupinách:





- Žádný rozdíl mezi skupinami:





Analýza rozptylu (ANOVA) jednoduchého třídění

- **Příklad:** Chceme srovnat, zda se liší objem hipokampu podle typu onemocnění (tzn. u pacientů s AD, pacientů s MCI a zdravých kontrol).
- Tzn. hypotézy budou mít tvar: $H_0 : \mu_{AD} = \mu_{MCI} = \mu_{CN}$

  $H_1 :$ nejméně jedno μ_i je odlišné od ostatních

- **Postup:**
  1. Popisná sumarizace objemu hipokampu podle typu onemocnění.
  2. Ověření normality hodnot ve VŠECH skupinách.
  3. Ověření shodnosti rozptylů VŠECH skupin.
  4. Aplikujeme statistický test.
  5. Nulovou hypotézu zamítneme nebo nezamítneme:
     p<0,001 < 0,05 → zamítáme nulovou hypotézu → Rozdíl v objemu hipokampu podle typu onemocnění je statisticky významný (na hladině významnosti α=0,05.)

Výsledky ANOVA testu

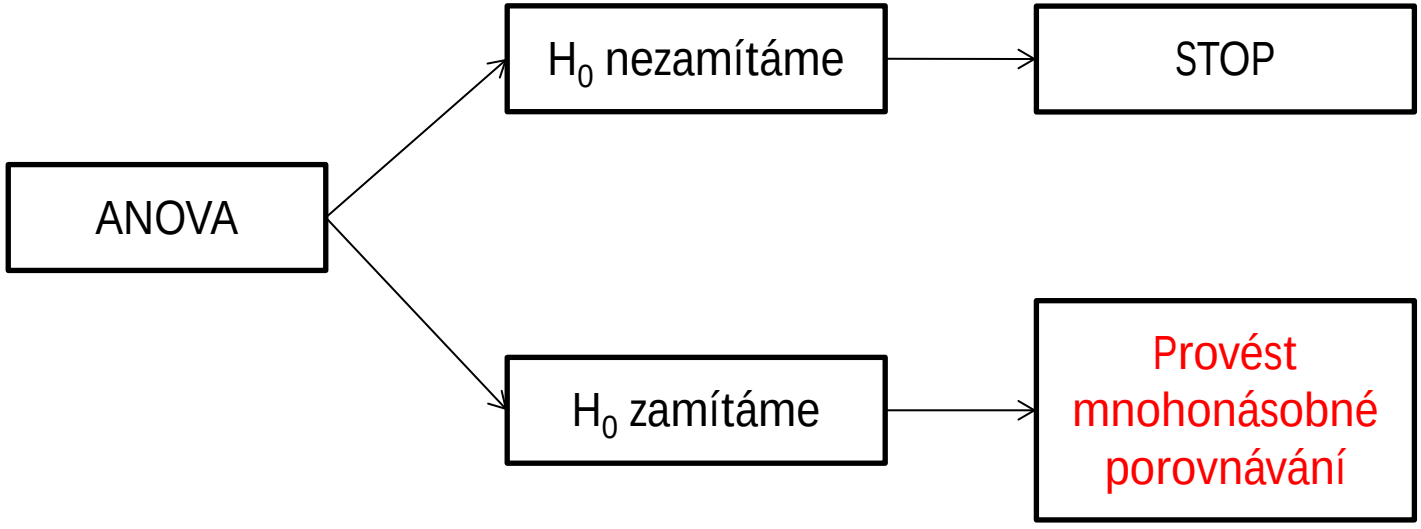
- Tabulka analýzy rozptylu jednoduchého třídění:

Variabilita	Součet čtverců	Počet stupňů volnosti	Průměrný čtverec	F statistika	p-hodnota
Mezi skupinami	S_A = 71 422 222	$df_A = k - 1$ = 2	$MS_A = S_A/df_A$ = 35 711 111	$F = \frac{S_A / df_A}{S_e / df_e} = 1103{,}6$	0,00
Uvnitř skupin (reziduální var.)	S_e = 26 857 142	$df_e = n - k$ = 830	$MS_e = S_e/df_e$ = 32 358		
Celkem	S_T = 98 279 364	$df_T = n - 1$ = 832			

- Výsledek ze softwaru STATISTICA:

	Analysis of Variance (Data_neuro_vycistena2) Marked effects are significant at p < ,05000							
Variable	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Hippocampus volume (mm3)	71422222	2	35711111	26857142	830	32358,00	1103,625	0,00

Další kroky analýzy



2. Problém násobného testování hypotéz a použití korekčních procedur

Korekce na násobné srovnání výběrů

- Zamítneme-li analýzou rozptylu nulovou hypotézu o celkové rovnosti středních hodnot, má smysl se ptát, jaké skupiny se od sebe nejvíce liší.
- Toto srovnání lze provést pomocí testů pro dva výběry, ale je nutné korigovat výslednou hladinu významnosti testu, abychom se vyhnuli chybě I. druhu.
- Nejjednodušší metoda: **Boferroniho procedura** - korekce hladiny významnosti: $\alpha^* = \alpha/m$, kde m je počet provedených testů. Ekvivalentně lze vynásobit p-hodnotu počtem provedených testů. Nevýhodou je, že je konzervativní pro velké m, tedy počet provedených testů.
- Pro analýzu rozptylu: **Tukeyho** a **Schefféhо post hoc testy**.
- Může se stát, že při použití různých korekcí nám mohou vyjít výsledky různě (např. při použití Schefféhо testu nám vyjde statisticky významný rozdíl mezi skupinou AD a MCI a při použití Tukeyho testu nám rozdíl statisticky významný nevyjde).

Poznámka

- Může nastat situace, kdy zamítneme H_0 u ANOVY, ale metodami mnohonásobného porovnávání nenajdeme významný rozdíl u žádné dvojice středních hodnot. K tomu dochází zvláště tehdy, když p-hodnota pro ANOVU je jen o málo nižší než zvolená hladina významnosti.

- Důvod: post-hoc testy (tzn. metody mnohonásobného porovnávání) mají obecně menší sílu než ANOVA, proto nemusí odhalit žádný rozdíl.

Korekce na násobné srovnání – jiná situace

- Problém násobného testování („Multiple Testing Problem“) nastává, i když je provedeno **větší množství testů na různých proměnných** v rámci jednoho hodnocení dat.
- Příklad: zjišťování, zda se liší objem šedé hmoty u dvou skupin subjektů v každém voxelu obrazu.

- Korekce:
  - **Bonferroniho korekce** – kontroluje pravděpodobnost, s jakou dostaneme falešně pozitivní výsledek (kontroluje chybu I. druhu); konzervativní pro velký počet provedených testů.
  - **False discovery rate (FDR)** – kontroluje podíl falešně pozitivních výsledků mezi všemi statisticky významnými výsledky (např. pokud je FDR 0,05 a počet všech statisticky významných výsledků bude 1000, tak můžeme očekávat, že 50 výsledků bude falešně pozitivních).

Úkol 1.

- **Zadání:** Zjistěte, zda se liší objem pallida podle typu onemocnění (nezapomeňte ověřit předpoklady).

- **Řešení:**

Variable	Analysis of Variance (Data_neuro_vycistena2) Marked effects are significant at p < ,05000							
	SS Effect	df Effect	MS Effect	SS Error	df Error	MS Error	F	p
Pallidum_volume (mm3)	229575,6	2	114787,8	34702692	830	41810,47	2,745432	0,064804

Parametrické a neparametrické testy pro kvantitativní data – přehled

Typ srovnání	Parametrický test	Neparametrický test
1 skupina dat s referenční hodnotou – jednovýběrové testy:	Jednovýběrový t-test, jednovýběrový z-test	Wilcoxonův test
2 skupiny dat párově – párové testy:	Párový t-test	Wilcoxonův test, znaménkový test
2 skupiny dat nepárově – dvouvýběrové testy:	Dvouvýběrový t-test	Mannův-Whitneyův test, mediánový test
Více skupin nepárově:	ANOVA	**Kruskalův- Wallisův test**

3. Kruskalův-Wallisův test

Co dělat, když nejsou splněny předpoklady u ANOVy?

1. **Zkusit data transformovat** – např. logaritmická transformace by měla pomoci s normalizací rozdělení a stabilizací rozptylu u log-normálních dat.

2. **Použít neparametrické testy** – např. Kruskalův-Wallisův test nevyžaduje předpoklad normality, pracuje stejně jako neparametrický Mannův-Whitneyův test.

Kruskalův-Wallisův test

- Neparametrická alternativa analýzy rozptylu (ANOVy).
- Testuje se, zda jsou srovnatelné distribuční funkce (obdobně jako u Mannova-Whitneyova testu).
- Hypotézy mají tvar: $H_0 : F_1(x) = F_2(x) = ... = F_k(x)$

  $H_1 :$ nejméně jedna F_i je odlišná od ostatních

- Princip Kruskalova-Wallisova testu (podobný jako u Mannova-Whitneyova testu):
  1. Všechny hodnoty ze všech výběrů dohromady uspořádáme vzestupně podle velikosti → každé hodnotě přiřadíme pořadí.
  2. Spočítáme součet pořadí hodnot u každého výběru.
  3. Na základě těchto dvou součtů vypočteme testovou statistiku.
- Tzn. za platnosti nulové hypotézy jsou spojená data dobře promíchaná a průměrná pořadí v jednotlivých souborech jsou podobná.
- Odlehlé hodnoty nejsou problém, protože pracujeme s pořadími.

Kruskalův-Wallisův test

- **Příklad:** Chceme srovnat, zda se liší MMSE skóre podle typu onemocnění.
- Tzn. hypotézy budou mít tvar: $H_0 : F_{AD}(x) = F_{MCI}(x) = F_{CN}(x)$

  $H_1 :$ nejméně jedna F_i je odlišná od ostatních

- **Postup:**
  1. Popisná sumarizace MMSE skóre podle typu onemocnění.
  2. Vykreslení histogramů MMSE skóre pro jednotlivé skupiny subjektů, abychom viděli, že není splněn předpoklad normálního rozdělení → proto použijeme neparametrický test.
  3. Aplikujeme statistický test.
  4. Nulovou hypotézu zamítneme nebo nezamítneme:
     p<0,001 < 0,05 → zamítáme nulovou hypotézu → **MMSE skóre je u pacientů s AD, MCI a u kontrol statisticky významně odlišné.**

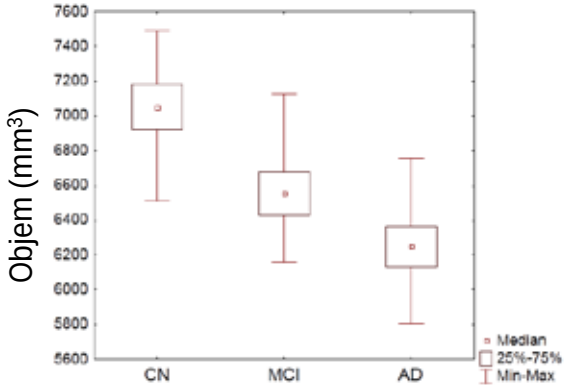
Úkol 2.

- **Zadání:** Zjistěte, zda se liší objem pěti mozkových struktur podle typu onemocnění (použijte Kruskalův-Wallisův test).

Výsledky srovnání objemů mozkových podle typu onemocnění

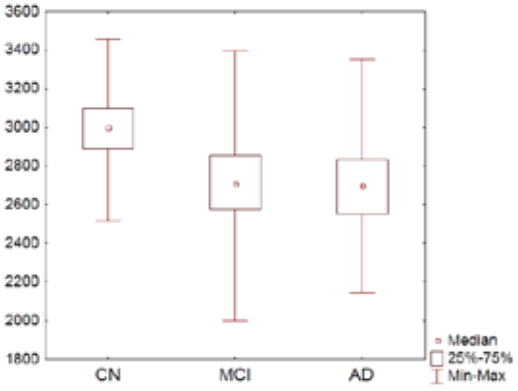
Hipokampus (p < 0,001*)

* Statisticky významný rozdíl: ADxMCI, ADxCN, MCIxCN

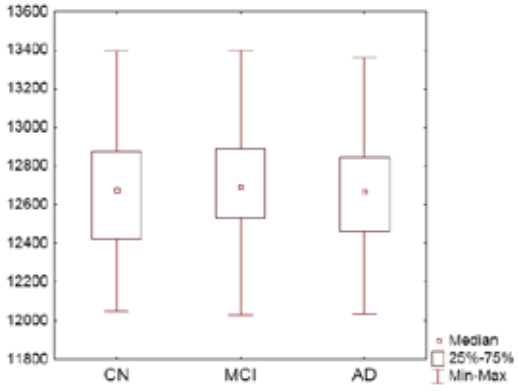


Amygdala (p < 0,001*)

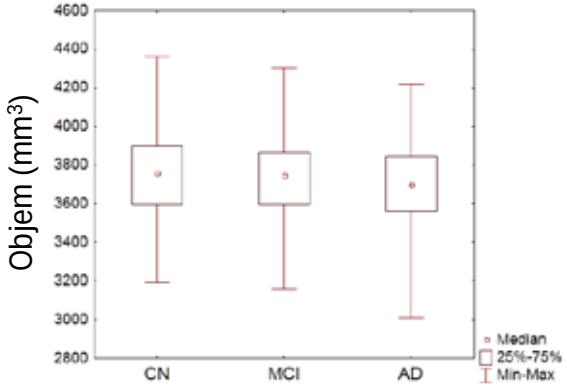
* Statisticky významný rozdíl: ADxCN, MCIxCN



Thalamus (p = 0,214)

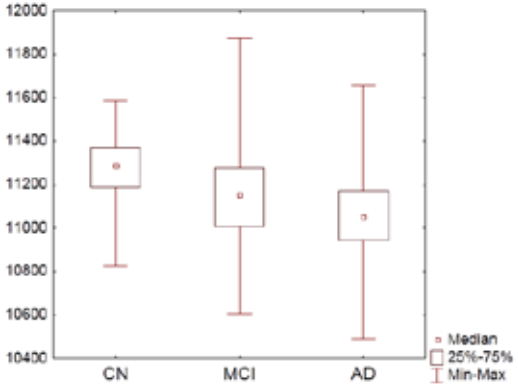


Pallidum (p = 0,078)



Putamen (p < 0,001*)

* Statisticky významný rozdíl: ADxMCI, ADxCN, MCIxCN



Úkol 3.

- **Zadání:** Zjistěte, zda se liší váha podle typu onemocnění. Pokud nejsou splněny předpoklady, zkuste váhu logaritmovat. Proveďte i popisnou sumarizaci váhy podle typu onemocnění včetně výpočtu intervalů spolehlivosti.

- **Řešení:**

	N	Geometrický průměr	Dolní mez IS	Horní mez IS	Medián	Minimum	Maximum
CN	230	76,9	75,3	78,5	76,0	52,0	135,0
MCI	406	75,4	74,1	76,7	75,5	52,0	140,0
AD	197	70,3	68,6	71,9	70,0	44,0	106,0

$p<0,001$*

*Statisticky významný rozdíl: ADxMCI, ADxCN

4. Analýza rozptylu jako lineární model

Analýza rozptylu jako lineární model

- Analýza rozptylu pro jednu vysvětlující proměnnou (jednoduché třídění) lze zapsat jako lineární model:

$$Y_{ij} = \mu_i + e_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Reziduum

Populační průměr

***i*-tý efekt faktoru A**

- Nulovou hypotézu pak lze vyjádřit jako: $H_0 : a_1 = a_2 = \mathrm{K} = a_k$

- **Rozšířením tohoto zápisu můžeme definovat další modely ANOVA**: více faktorů, hodnocení interakcí, opakovaná měření na jednom subjektu.

Analýza rozptylu dvojného třídění

- Uvažujeme dvě vysvětlující proměnné zároveň.
- Zápis modelu:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ij}$$

Reziduum

j-tý efekt faktoru B

Populační průměr

i-tý efekt faktoru A

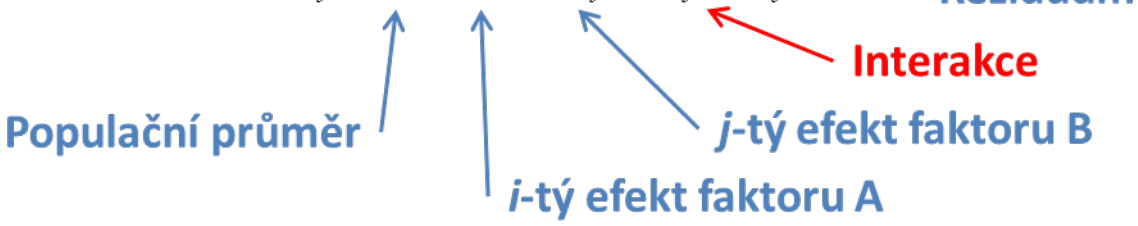
- Nulové hypotézy pak máme dvě: $H_{01} : a_1 = a_2 = \mathrm{K} = a_k$, $H_{02} : b_1 = b_2 = \mathrm{K} = b_r$

Variabilita	Součet čtverců	Počet stupňů volnosti	Průměrný čtverec	*F* statistika	*p*-hodnota
Faktor A	S_A	$df_A = k - 1$	$MS_A = S_A / df_A$	F_A	p
Faktor B	S_B	$df_A = r - 1$	$MS_B = S_B / df_B$	F_B	p
Rezidua	S_e	$df_e = (k - 1)(r - 1)$	$MS_e = S_e / df_e$		
Celkem	S_T	$df_T = n - 1 = kr - 1$			

Analýza rozptylu dvojného třídění s interakcí

- Uvažujeme dvě vysvětlující proměnné a zároveň i jejich společné působení.
- Zápis modelu:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + e_{ij}$$



- Nulové hypotézy pak máme tři:

$$H_{01}: g_{11} = g_{12} = \mathrm{K} = g_{kr} \qquad H_{02}: a_1 = a_2 = \mathrm{K} = a_k \qquad H_{03}: b_1 = b_2 = \mathrm{K} = b_r$$

Variabilita	Součet čtverců	Počet stupňů volnosti	Průměrný čtverec	*F* statistika	*p*-hodnota
Faktor A	S_A	$df_A = k - 1$	$MS_A = S_A / df_A$	F_A	p
Faktor B	S_B	$df_A = r - 1$	$MS_B = S_B / df_B$	F_B	p
Interakce A×B	S_{AB}	$df_{AB} = (k-1)(r-1)$	$MS_{AB} = S_{AB} / df_{AB}$	F_{AB}	p
Rezidua	S_e	$df_e = n - kr$	$MS_e = S_e / df_e$		
Celkem	S_T	$df_T = n - 1$			

Poděkování…

Příprava výukových materiálů předmětu „DSAN01 Analýza dat pro Neurovědy “ byla finančně podporována prostředky projektu FRVŠ č. 942/2013 „Inovace materiálů pro interaktivní výuku a samostudium předmětu Analýza dat pro Neurovědy“