

Západočeská univerzita v Plzni  
Fakulta aplikovaných věd

**METODY MĚŘENÍ A VYHODNOCENÍ  
EXPERIMENTŮ VÝZKUMU  
NEURODEGENERATIVNÍCH CHOROB  
SE ZAMĚŘENÍM NA ANALÝZU CHYB**

**Ing. Lucie Houdová**

disertační práce  
k získání akademického titulu doktor  
v oboru Kybernetika

Školitel: doc. Ing. Eduard Janeček, CSc.

Katedra: Katedra kybernetiky

**Plzeň, 2013**

University of West Bohemia  
Faculty of Applied Sciences

**EXPERIMENTAL MEASUREMENT AND  
EVALUATION METHODS FOCUSED ON  
ERROR ANALYSIS IN  
NEURODEGENERATIVE DISEASES  
RESEARCH**

**Ing. Lucie Houdová**

**A thesis submitted in partial fulfillment  
of the requirements for the degree Doctor of Philosophy  
in the field of Cybernetics**

Supervisor: doc. Ing. Eduard Janeček, CSc.  
Department: Department of Cybernetics

**Pilsen, 2013**

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, jejichž úplný seznam je její součástí.

V Plzni, dne .....

.....

Lucie Houdová

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování mému školiteli doc. Ing. Eduardu Janečkovi, CSc. za jeho cenné rady, připomínky a trpělivost při vedení mé práce. Stejně tak bych ráda poděkovala MUDr. Janu Cendelínovi, Ph.D. z Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni za poskytnutná data a lékařské poznatky. Dále bych chtěla poděkovat rodině, především manželovi, přátelům a kolegům za jejich podporu.

## **Anotace**

Tématem práce je analýza užívaných metodik měření a metod vyhodnocení, analýza chyb těchto metod, návrh metod nových, které lépe popisují proces učení a způsoby eliminace určených chyb. Analýzy jsou zaměřeny na experimenty motorického a prostorového učení inbredních myší v souvislosti s výzkumem neurodegenerativních chorob. V práci jsou uvedeny nedostatky měření a standardních metod vyhodnocení, možnosti využití nevyužívaných metod biologické statistiky, využití klasifikačního kritéria a jsou navrženy nové metody vyhodnocení s využitím aproximací normálním, Weibullovým a Coxovo fázovým rozdělením. Současně s metodami je určen vliv nevyužití apriori informace, provedena citlivostní analýza na množství dat a určeny chyby jednotlivých metod a měření. Závěrem je pro odborníky sestaven doporučený způsob vyhodnocování experimentů a popisu procesu učení ve variantách s minimálním a se zásadním zásahem do jimi užívaných standardních metod.

*Klíčová slova:* měření a vyhodnocení biologických experimentů, motorické a prostorové učení, analýza chyb, statistická vzdálenost

## **Abstract**

The thesis topic is the analysis of commonly used measurement and evaluation methods, error analysis of these methods, and the design of new methods for learning process description and elimination of identified errors. The analyses focuses on motor and spatial learning experiments of inbred mice in association with neurodegenerative diseases research. Inadequacies of standard measurement and evaluation methods as well as usefulness of overlooked methods from biological statistics and classification criteria are presented. New evaluation methods are designed based on approximations using either the normal, Weibull or Cox phase distribution. Together with the evaluation methods, the influence of non-use of a priori information is determined, sensitivity analysis with respect to the size of the data set is performed and errors of the methods and measurement are identified. The primary outcomes are protocols for the evaluation of experiments and learning process descriptions that bare either fundamental or minimal differences from standard solutions.

*Key words:* measurement and evaluation of biological experiments, motor and spatial learning, error analysis, statistical distance

## Obsah

<b>1 Úvod do problematiky, motivace a cíle disertační práce</b>	<b>1</b>
1.1 Zvířata jako modely lidských onemocnění . . . . .	1
1.2 Motivace disertační práce . . . . .	3
1.3 Cíle disertační práce . . . . .	5
<b>2 Formulace problému</b>	<b>6</b>
2.1 Systém definující proces učení . . . . .	6
2.2 Definování úlohy . . . . .	9
2.3 Metody měření (vyhodnocení), definování, redukce a eliminace chyb – základní otázky . . . . .	10
<b>3 Metody měření a testování nervových funkcí myších jedinců</b>	<b>12</b>
<b>4 Metody měření a vyhodnocení biologických experimentů</b>	<b>15</b>
4.1 Současné užívané metody . . . . .	15
4.1.1 Konkrétní metody pro analýzu kognitivních testů a testů motorické koordinace . . . . .	17
4.1.2 Nedostatky standardních metod . . . . .	18
4.1.3 Návrhy na inovaci metod za využití aproximace normálním rozdělením	20
4.2 Metody aproximace empirických dat teoretickým rozdělením . . . . .	22
4.3 Hodnocení v pravděpodobnosti . . . . .	24
4.4 Hodnocení v jednotkách náhodné veličiny . . . . .	26
4.5 Informační přínos experimentu . . . . .	29
4.5.1 Míra informace a míra neurčitosti . . . . .	29
4.5.2 Vydátnost a kvalita učení . . . . .	31
<b>5 Definování chyb a metody eliminace chyb měření (vyhodnocení)</b>	<b>32</b>
5.1 Důsledky různé (nevhodné) klasifikace dat . . . . .	32
5.2 Odchytky aproximací různým rozdělením a empirických dat . . . . .	33
5.3 Odchytky způsobené zmenšujícím se množstvím dat . . . . .	35
5.4 Odchytky vyplývající z nevyužití apriori informace . . . . .	37

---

<b>6</b>	<b>Demonstrace metod na vybraném experimentu</b>	<b>41</b>
6.1	Popis experimentu . . . . .	41
6.2	Standardní způsob vyhodnocení experimentu . . . . .	42
6.2.1	Standardní vyhodnocení motorického testování . . . . .	43
6.2.2	Standardní vyhodnocení kognitivního testování . . . . .	46
6.2.3	Standardní vyhodnocení testování open-field . . . . .	49
6.2.4	Závěry standardního vyhodnocení experimentu . . . . .	50
6.3	Využití nových metod při vyhodnocení . . . . .	52
6.3.1	Nevyužívané metody biologické statistiky . . . . .	52
6.3.2	Nové metody pro analýzu experimentu při volbě aproximace normálním rozdělením . . . . .	61
6.3.3	Nové metody pro analýzu experimentu při volbě jiné aproximace než aproximace normálním rozdělením . . . . .	74
6.3.4	Analýza chyb souvisejících s metodikou experimentu . . . . .	81
6.4	Zhodnocení provedených analýz ukázkového experimentu . . . . .	90
6.4.1	Shrnutí a závěry provedených standardních i inovativních analýz . . . . .	90
6.4.2	Odpovědi na předem formulované otázky . . . . .	97
<b>7</b>	<b>Zhodnocení analyzovaných experimentů</b>	<b>100</b>
7.1	Odpovědi na předem formulované otázky . . . . .	104
<b>8</b>	<b>Doporučený způsob vyhodnocování experimentů</b>	<b>107</b>
8.1	S minimálním zásahem do standardních metod . . . . .	107
8.2	Se zásadním zásahem do standardních metod . . . . .	108
8.3	Další doporučení a možnosti rozšíření . . . . .	109
<b>9</b>	<b>Závěr</b>	<b>112</b>
	<b>Literatura a použité zdroje</b>	<b>121</b>
	<b>Vlastní publikace</b>	<b>126</b>
<b>A</b>	<b>Popis konkrétních experimentů a datového souboru</b>	<b>131</b>
A.1	Vliv podávání SCH 23390 na prostorové učení . . . . .	131

---

A.2	Vliv podávání SCH 23390 aktivního a SCH 23388 neaktivního . . . . .	132
A.3	Prostorové učení kmene C3H se značkou na ostrůvku . . . . .	133
A.4	Zraková orientace kmenů C3H a C57Bl/7 . . . . .	133
A.5	Srovnání schopností kmenů C3H a C57Bl/7 . . . . .	134
A.6	Vliv transplantace na motorické schopnosti . . . . .	136
A.7	Vliv transplantace mozečku na nervové funkce trénovaných / netrénovaných jedinců . . . . .	137
A.8	Vliv chronického působení vysokofrekvenčního pole . . . . .	138
A.9	Vliv akutního působení vysokofrekvenčního pole . . . . .	139
A.10	Vliv diety na schopnost učení . . . . .	140
<b>B</b>	<b>Laboratorní testování motorického učení</b>	<b>141</b>
<b>C</b>	<b>Matematický aparát</b>	<b>142</b>
<b>D</b>	<b>Obsah příloženého CD</b>	<b>145</b>



## Seznam obrázků

2.1	Třístavový model jakéhokoliv testu během kognitivního a motorického testování	8
3.1	Princip experimentu v Morrisově vodním bludišti (s ostrůvkem)	13
4.1	Hustota pravděpodobnosti (PDF) a distribuční funkce (CDF) pro dvě odlišná měření (a) s odlišnou střední hodnotou a (b) se stejnou střední hodnotou	19
4.2	Hustota pravděpodobnosti pro data včetně limitace 60 s a s eliminací limitace.	20
4.3	Možné způsoby interpretace výstupů kognitivního testu v MWM probíhajícího v 10 dnech: (a) Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrém, odlehlé hodnoty; (b) Střední hodnota $\mu$ , rozptyl $\sigma$ , chyba průměru SEM	21
4.4	Možné způsoby aproximace dat získaných empirickým měřením: (a) distribuční funkce a (b) hustota pravděpodobnosti	23
4.5	Dva různé způsoby aproximace měření s ilustrací pravděpodobnostního přístupu hodnocení	25
4.6	Dva různé způsoby aproximace měření s ilustrací přístupu hodnocení v jednotkách náhodné proměnné	26
5.1	Demonstrace využití apriori informace Varianta 1. pro určení odchylky $O_{apriori}$	38
5.2	Demonstrace využití apriori informace Varianta 2. pro určení odchylky $O_{apriori}$	39
6.1	Statistické charakteristiky procentuální úspěšnosti $u_p$ motorického testování dle typu tréninku.	43
6.2	Statistické charakteristiky procentuální úspěšnosti motorického testování $u_p$ v procentech ve skupinách dělených dle typu tréninku a provedení transplantace.	45
6.3	Statistické charakteristiky dosažení ostrůvku v MWM dle typu tréninku.	46
6.4	Statistické charakteristiky dosažení ostrůvku v MWM dle typu tréninku.	48
6.5	Korelace dob strávených na nářadí	53
6.6	Korelace výstupů kognitivního testování v Morrisově vodním bludišti	54
6.7	Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrém, odlehlé hodnoty pro dobu strávenou na hrazdě $t_L$	59
6.8	Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrém, odlehlé hodnoty pro dobu nalezení ostrůvku v MWM $t_L$	61
6.9	Distribuční funkce doby strávené na válci v skupině trénované na válci s provedenou transplantací.	63

6.10	Distribuční funkce latence (doby dosažení ostrůvku) ve skupině trénované na válci s provedenou transplantací. . . . .	63
6.11	Úspěšnost a vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	65
6.12	Úspěšnost a vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	66
6.13	Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru (odhad chyby střední hodnoty), vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci	68
6.14	Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru (odhad chyby střední hodnoty), vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci	69
6.15	Distribuční funkce testování na válci $F(t_L)$ pro skupiny trénované na válci . .	71
6.16	Znormované statistické vzdálenosti $D_p$ a $W_d$ při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	71
6.17	Vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci dle parametrů $D_p$ , resp. $W_d$ . . . . .	72
6.18	Distribuční funkce testování v MWM $F(t_L)$ pro skupiny trénované na válci .	72
6.19	Znormované statistické vzdálenosti $D_p$ a $W_d$ při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	73
6.20	Vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci dle parametrů $D_p$ , resp. $W_d$ . . . . .	73
6.21	Hustota pravděpodobnosti různých aproximací pro skupinu trénovanou na válci pro motorický test na válci a na hrazdě . . . . .	74
6.22	Odchylyky aproximací $D_p(F_{A_i}, F_X t_k)$ pro skupinu s provedenou transplantací trénovanou na válci při testování na válci a hrazdě . . . . .	76
6.23	Proces učení dle (znormované) statistické vzdálenosti $D_p$ při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	79
6.24	Odchylyka úspěšnosti učení při testování na válci ve skupině trénované na válci při nevyužití apriori informace . . . . .	82
6.25	Chyba metody hodnocení pravděpodobnosti úspěchu $u$ testování na válci pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	84
6.26	Chyba měření hodnocení pravděpodobnosti úspěchu $u$ testování na válci pro skupinu trénovanou na válci . . . . .	85
6.27	Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru při testování na válci pro skupinu nedělenou dle tréninku a skupiny dělené dle tréninku. . . . .	89

---

B.1	Laboratorní testy prováděné na myších jedincích . . . . .	141
-----	---	-----

## Seznam tabulek

6.1	MANOVA pro $t_L$ (dobu strávenou) na nářadí během motorického testování při jednotlivých testech . . . . .	56
6.2	Informační přínos testů na válci pro skupinu trénovanou na válci (dělených dle provedení transplantace) . . . . .	64
6.3	Informační přínos testů v MWM (pro latenci) pro skupinu trénovanou na válci (dělených dle provedení transplantace) . . . . .	64
6.4	Hodnoty $D_p(A_i)$ pro hodnocení vhodnosti vybraných aproximací pro skupinu trénovanou na válci s provedenou transplantací . . . . .	76
6.5	Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti $D_p$ pro skupinu trénovanou na válci s provedenou transplantací při testování na válci s využitím aproximace různými rozděleními . . . . .	80
6.6	Hodnoty znormované odchylky $O_{apriori}$ při testování na válci pro transplantovanou a kontrolní skupinu dle provedení tréninku (max. možná odchylka $O_{apriori} = 100$ ) . . . . .	83
6.7	Hodnoty maximálních chyb metody pro skupinu trénovanou na válci a s provedenou transplantací při měření testu na válci . . . . .	85
6.8	Hodnoty maximálních chyb měření pro skupinu trénovanou na válci a s provedenou transplantací při měření testu na válci . . . . .	86
6.9	Hodnoty kritéria $J$ pro klasifikaci naměřených dat pro atribut $\tau$ . . . . .	88
A.1	Faktory experimentu vlivu SCH 23390 na prostorové učení . . . . .	132
A.2	Faktory experimentu vlivu podávání SCH 23390 aktivního a SCH 23388 neaktivního . . . . .	133
A.3	Faktory experimentu vlivu značky na ostrůvku na prostorové učení kmene C3H . . . . .	134
A.4	Faktory experimentu vlivu zřetelové orientace na prostorové učení . . . . .	134
A.5	Faktory experimentu srovnání schopností kmenů . . . . .	136
A.6	Faktory experimentu vlivu transplantace na motorické schopnosti . . . . .	137
A.7	Faktory experimentu vlivu transplantace na nervové funkce . . . . .	137
A.8	Faktory experimentu chronického působení vysokofrekvenčního pole . . . . .	139
A.9	Faktory experimentu akutního působení vysokofrekvenčního pole . . . . .	139
A.10	Faktory experimentu vlivu diety na schopnost učení . . . . .	140
C.1	Statistické metody a testy hypotéz . . . . .	144

# 1 Úvod do problematiky, motivace a cíle disertační práce

## 1.1 Zvířata jako modely lidských onemocnění

Smyslem biomedicínského výzkumu je shromažďování informací pro pochopení biologických pochodů u živých organismů a principů u organismu lidského, zkoumání vlivu různých onemocnění, rozvoje bezpečných a efektivních způsobů prevence a léčení chorob.

Důležitou součástí je používání zvířecích (biologických) modelů. Jedná se o jednu ze tří hlavních výzkumných metod. Tato se využívá v případech, kdy je nezbytná znalost pochodů v živém organismu, ale využití lidských jedinců je eticky nepřijatelné. Na výzkum a testování na zvířatech připadá však jen zlomek z celého výzkumu v medicíně a biologii. Další metody, in vitro techniky a výzkum v oblasti lidských jedinců a v rámci populace, nelze brát jako alternativy, ale jedná se o metody stejně platné, které společně vytváří celkový obraz daného problému.

Metoda použití zvířecích modelů posloužila v minulosti k identifikaci některých druhů rakoviny, při vývoji metod pro diagnostiky srdečních onemocnění či ve výzkumech vedoucích k tvorbě mnoha důležitých krevních testů. Byla též zásadní i v rozvoji techniky. Jako příklad lze uvést metody pro kontrolní skenování zdravotního stavu nenarozených dětí.

Vzhledem k pokroku v molekulární genetice a vývoji technologií genového přenosu bylo v posledních desetiletích vyvinuto mimo jiné mnoho zvířecích modelů neurodegenerativních onemocnění. Konkrétně jde o biologické modely Parkinsonovi nemoci, Alzheimerovi choroby, Huntingtonovi choroby, různých ataxií a řady dalších neurodegenerativních onemocnění [11].

V případě neurodegenerativních onemocnění se jedná především o myši a potkaní modely a modely nečlověčích primátů (přehled lze nalézt v [12]). Obecně jsou myši doposud nejčastěji používanými zvířecími modely v lékařském výzkumu. Genom myši [24] i člověka [42] byl již zmapován – 80% lidských genů je naprosto stejných jako u myši a minimálně dalších 10% je velmi podobných, což umožňuje studium lidských genetických poruch a chorob s daleko větší přesností a menším rizikem. K porozumění a zacházení s lidskými nemocemi jsou obdobně užiteční laboratorní potkani, široce užívaní pro testování léků, jejich účinnosti a s tím související bezpečnosti. Proto jsou laboratorní myši a potkani hojně využíváni jako modelové organismy [16].

Často jediným způsobem, jak určit funkci lidského genu, je vložit ji do nebo odstranit z myšičího genomu. Pro genetické studie je proto používáno geneticky modifikovaných zvířat. Geneticky modifikované myši jsou užitečné při studiu mnoha dědičných chorob způsobených vadami genetického kódu jedince. Některá závažná a potenciálně smrtelná onemocnění (jako je srpkovitá choroba nebo cystická fibróza) jsou způsobena pouze vadnými geny, u některých dlouhodobých onemocnění (např. diabetes nebo revmatoidní artritida) mohou být příčinou

vadné geny v kombinaci s dalšími faktory jako jsou např. infekce. Někdy se u zvířat vyskytuje stejná genetická porucha jako u lidí, proto jsou takováto zvířata důležitá pro výzkum průběhu, následků a možnosti léčby specifických genetických onemocnění (např. u myši se přirozeně rozvíjí svalová dystrofie).

Zvířecím modelem vrozené mozečkové degenerace jsou mutantní myši typu Lurcher, jichž pro studium neurodegenerativních onemocnění využívá i Ústav patologické fyziologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni. Výzkum se zabývá různými vlivy na schopnost prostorového učení, motorické funkce, spontánní motorickou aktivitu a excitabilitu centrální nervové soustavy (CNS). Jedná se např. o transplantaci embryonálního mozečkového transplantátu, vliv nucené pohybové aktivity, působení dané chemické látky či vliv působení magnetického pole.

U mutantů typu Lurcher dochází ke kompletní ztrátě Purkyňových buněk mozečku během prvních tří měsíců života. Mozeček je významnou částí CNS, nezbytnou pro řízení motoriky (udržení svalového napětí, rovnováhy a koordinace pohybů). V kůře mozečku se vyskytuje mnohem více neuronů v porovnání s kůrou velkého mozku. Má spojení s míchou a mnoha mozkovými strukturami, čímž se kromě řízení motoriky podílí rovněž na kognitivních procesech (poznávání, učení) a emotivitě [32].

Odumíráním Purkyňových buněk dochází k přerušení spojení mezi kůrou mozečku a ostatními částmi mozku, a tedy k poruše funkčnosti. Vzniká tak onemocnění zvané mozečková ataxie, projevující se nedostatky v procesech řízených právě mozečkem, tj. v motorice (nejde o ztrátu hybnosti, ale o abnormální nekoordinované pohyby – špatnou koordinaci jemné motoriky a třes), v poruše kognitivních funkcí, ve vyšší excitabilitě CNS a vyšší citlivosti k neurotoxickým vlivům. Jedinec budí dojem opilosti. U člověka jsou nejčastější příčinou vyřazení mozečkových funkcí vývojové vady, traumata, intoxikace, vaskulární příčiny, nádory mozečku, roztroušená skleróza, záněty – cerebelitidy a hereditární spinocerebelární degenerace [36].

Při výzkumu je pro testování schopností běžně používáno inbredních zvířat. Jedná se o jedince pěstované trvalým křížením úzce spřízněných jedinců, speciálně k zachování žádoucích znaků (určité genetické mutace). Jejich vlastnosti jsou velice blízké. Tím se rapidně snižuje počet nezbytně nutných jedinců potřebných pro testování, aby závěry z provedeného experimentu byly statisticky významné. Jako minimum v testované skupině se udává 6 jedinců. Více o inbredních myších lze nalézt v [23].

Výše uvedený text čerpá především z [43], pokud není uvedeno jinak. Podrobnější informace o využívání a přínosech laboratorních zvířat v medicíně lze nalézt v [20].

## 1.2 Motivace disertační práce

Z technického hlediska lze k výzkumu neurodegenerativních chorob spojených s vyhodnocováním procesu učení přistoupit dvěma způsoby.

Prvním z nich je tvorba kybernetických modelů vytvořených na biologické podstatě, buď přímo zkoumaného onemocnění či vlivu nějakého parametru. Dosud bylo vytvořeno mnoho počítačových modelů klasického podmiňování, viz např. [4] či [29], obdobně pak i obecných modelů motorického učení, např. [1] či [6]. S rozvojem neuronových sítí se vědci v 90. letech začali zabývat konkrétními modely pohybu končetin, především z hlediska využití v robotice. Problematika učení prostorového z pohledu navigace u hlodavců je řešena taktéž především z hlediska využití v robotice, viz např. [3], většinou specificky zaměřená (vytváření násobných prostorových map [35] či neuro-mimetická navigace<sup>1</sup> [2]).

Druhým, ne běžně řešeným, přístupem je tvorba vyhodnocovacích modelů postavených pro provádění biologické experimenty na zvířecích modelech. Je nutné zdůraznit, že počítačové modely jsou také hodnoceny dle provedených skutečných experimentů na modelech biologických (zvířecích) a ne vždy je z principu jejich tvorba možná. Proto je vhodné zaměřit se na variantu druhou, tj. na metodiku laboratorních experimentů, metody jejich měření a vyhodnocování.

Chyby, kterých se při měření a vyhodnocení lze dopustit, je možno rozdělit na [21]:

1. instrumentální chyby – způsobeny konstrukcí měřícího přístroje (u řady přístrojů známy a garantovány výrobcem)
2. metodické chyby – souvisí s použitou metodikou stanovení výsledků měření, jako je odečítání dat, organizace měření, eliminace vnějších vlivů atd.
3. teoretické chyby – souvisí s použitým postupem měření; jde zejména o principy měření, fyzikální modely měření, použité parametry atd.
4. chyby zpracování dat – jde o chyby způsobené užitím nevhodných metod statistického vyhodnocení a chyby numerických metod

Podle příčiny vzniku pak na:

1. chyby hrubé (omyly) – vznikají buď přehlédnutím při měření nebo použitím vadného měřícího přístroje
2. chyby systematické – způsobeny neustále stejnou příčinou (jde o chyby metody, chyby metody vyhodnocení, chybné stanovení podmínek měření a chyby přístrojů); zdokonalením měřící metody a použitím nezávislých měřících metod je lze omezit.

---

<sup>1</sup>zameřeno na pohyb k cíli

- chyby nahodilé – jsou přítomny při všech prováděných pokusech; nejeví známky pravidelnosti, nedaří se objevit jejich příčiny, ani odstranit jejich vliv na měření; přestože tyto chyby není možné odstranit, je možné je metodami matematické statistiky popsat a určit jejich vliv na přesnost měření

Nesprávným způsobem, metodikou či nevhodnou interpretací je tedy možné dopouštět se systematických chyb. Takovéto chyby je nutno co nejvíce eliminovat. Obdobně je nutno brát ohled i na neurčitost daných laboratorních experimentů. Možná eliminace chyb či odhad vlivu těchto chyb při interpretaci výsledků výzkumu neurodegenerativních chorob, resp. procesu učení, jsou proto velice důležité.

Mezi metody využívané LF UK v Plzni při testování kognitivních funkcí u myších mutantů typu Lurcher patří test prostorového učení v Morrisově vodním bludišti (Morris Water Maze – MWM). Pro testování motorické koordinace, tj. motorického učení, je používán test pádu, hrazda, žebřík, lávka a válec. Společně s tímto je často prováděn behaviorální test open-field. Při experimentech je vyhodnocována především latence (doba strávená v bludišti během prostorového učení) a úspěšnost pokusu (zda myš při motorických testech stráví na daném nářadí metodicky danou dobu či nikoliv). U testu open-field je často registrována ušlá dráha.

Jak bylo uvedeno výše, pro testování se používá inbredních kmenů myší, což umožňuje při provádění experimentů využití relativně malého množství jedinců. Experimenty jsou vyhodnocovány standardními statistickými metodami, viz např. [27]. Latence a dráha je vyhodnocována aritmetickým průměrem (odhadem střední hodnoty) a chybou průměru SEM (či někdy směrodatnou odchylkou), úspěšnost procentuálně. Vlivy sledovaných kvalitativních faktorů jsou nejčastěji určovány analýzou rozptylu (ANOVA), která využívá při vyhodnocování statistické významnosti F-rozdělení, a post hoc Scheffé test. Za hranici pro statistickou významnost se obecně bere hladina  $\alpha = 0.05$  (p-value  $p < 0.05$ ). Je však možné stanovit si hladinu jinou, zpravidla nižší, např.  $p < 0.01$ , a to především v případě neočekávaných výsledků, pokud je nutné být opatrný vzhledem k povaze konkrétní studie založené na provedeném experimentu.

Obdobným způsobem jsou vyhodnocovány takovéto experimenty prováděné na jiných pracovištích ve světě, občas je pro vyhodnocování latence využito hodnot mediánu a kvartilového rozpětí. Jsou využívány statistické programy a toolboxy, jako např. SPSS Windows package či Multi-QTL package [30].

Je třeba si uvědomit, že pro vyhodnocení laboratorního experimentu jsou důležité počáteční podmínky experimentálních metod, jejich parametry, vliv jednotlivých parametrů daných metod, způsob provedení a vyhodnocení fyziologických experimentů, jejich informační přínos apod., což obvykle nebývá při vyhodnocování zohledněno. Také by bylo vhodné



vědět, jak velkých chyb se můžeme dopustit při práci s inbredními kmeny myší. Testy hypotéz předpokládají určitý minimální rozsah souboru a výsledek provedený s malým souborem jedinců nemusí vypovídat o skutečném stavu. Motivací této práce je tedy co možná největší eliminace možných chyb.

### 1.3 Cíle disertační práce

Cílem práce je analýza metodik měření a vyhodnocení tak, aby bylo zřejmé, jakých chyb se je možno dopustit při experimentech a při interpretaci jejich výsledků. Dále pak návrh úprav či změn metodik měření a vyhodnocení tak, aby bylo možno co nejlépe interpretovat výsledky měření a co možná nejvíce eliminovat vznikající chyby. Modely chyb jsou vytvořeny především pro učení podmiňováním. Avšak pro učení motorické a prostorové, které je v rámci výzkumu řešeno na LF UK v Plzni, jsou tyto modely nedostatečné či nejsou vytvořeny vůbec.

Náplní práce bude proto analýza metod měření a vyhodnocování prováděných biologických experimentů, analýza chyb těchto metod, návrh metod nových, které budou lépe interpretovat výsledky měření a metody eliminace určených chyb právě pro testování motorického a prostorového učení.

Získávání experimentálních dat je limitováno mnoha faktory, které způsobují odchýlení od skutečných hodnot. Tyto odchylky determinují neurčitost v průběhu experimentu. Tomuto je nutné věnovat pozornost. Vzhledem k povaze práce bude též potřebné zaměřit se na jednotlivé chyby související s vyhodnocováním experimentálních dat a provést jejich analýzu. Konkrétně půjde o analýzy chyb využívaných metod měření, chyb metod vyhodnocení, chybné stanovení podmínek měření a chyb nahodilých.

Vše zmíněné musí být řešeno pro konkrétní prováděné testy a s ohledem na podněty (vlivy) na motorické a kognitivní funkce využívaných biologických modelů (v případě této práce laboratorních myší). Jedná se především o podněty chemické (podávání látek), fyzikální (vliv působení vysokofrekvenčního pole) a biologické vlivy (transplantace; pohlaví, kmen, přítomnost neurodegenerativního onemocnění). Z tohoto důvodu je samotná práce založena na konkrétních experimentech prováděných právě na LF UK v Plzni.

Výsledky této práce mohou sloužit v praxi, a to odborníkům v oblasti provádění experimentů při výzkumu neurodegenerativních chorob, především pro zacházení s daty získanými měřeními na biologických (zvířecích) modelech i se samotnými metodikami měření těchto dat.

## 2 Formulace problému

Jednou z úloh řešených na Ústavu patologické fyziologie LF UK v Plzni je problematika disfunkce mozečku, ovlivňující motorické a kognitivní funkce jedince. Nástrojem pro zjišťování úrovně těchto disfunkcí je několik metod motorického a prostorového učení a s nimi související excitivita CNS (epileptická reakce). V laboratorních podmínkách jsou prováděny různé druhy experimentů, které jsou vyhodnocovány především off-line.

Cílem práce jsou metody měření a modelování (analýzy) vlivů faktorů při daných experimentech na motorické a kognitivní funkce laboratorních myší a metody analýz chyb vyhodnocování těchto metod. Analýzou vlivu faktorů budeme rozumět analýzu dat z prováděných testů cílenou právě tak, aby odpovídala alespoň na některé níže uvedené otázky. Metodami modelování chyb budeme rozumět proces ohodnocení „síly, tj. věrohodnosti“ odpovědí na otázky při daných parametrech a počtech testů.

Je potřeba se na problematiku měření a vyhodnocování biologických experimentů zaměřit z pohledu stochastických systémů, tj. s ohledem na neurčitost. Stejně tak je vhodné zaměřit se na dynamiku procesu učení jako projev kognitivních a motorických schopností jedinců. Dynamika procesu je doposud zohledněna pouze jako procento úspěšnosti a v křivce učení, která je ovšem běžně určena jen střední hodnotou a chybou průměru (tzn. parametry normálního rozdělení).

### 2.1 Systém definující proces učení

K porozumnění vybraných přírodních dějů je obecně nutné zkoumat tyto děje ve všech podstatných souvislostech, tj. studovat úplný soubor dějů neovlivňovaný svým okolím. Na začátek je proto vhodné popsat zkoumaný systém z hlediska technického, tzn. kybernetického pohledu. Tato práce se zabývá měřením a vyhodnocením kognitivních a motorických funkcí myších jedinců z pohledu procesu učení. Systém definující proces učení je stochastický, k jeho popisu se využívají parametry náhodných procesů. Nejdříve je proto vhodné definovat náhodnou veličinu a náhodný proces.

**Definice 1** *Nechť je dán pravděpodobnostní prostor  $(\Omega, \mathcal{F}, P)$  a topologický prostor reálných čísel s přirozenou topologií  $(R, \mathcal{T})$ . Pak měřitelné zobrazení  $X : \Omega \rightarrow R$  nazýváme náhodnou veličinou.*

$\Omega$  je jevový prostor, tj. neprázdná množina s prvky  $\omega \in \Omega$ , nazývané výsledky experimentů;  $\mathcal{F}$  je  $\sigma$ -algebra podmnožin jevů základní množiny  $\Omega$  a pravděpodobnost  $P$  je míra definovaná na  $\sigma$ -algebře  $\mathcal{F}$ .

**Definice 2** *Náhodným procesem je soubor náhodných veličin  $X = \{X_t : t \in T\}$ , kde  $T$  je zpravidla chápáno jako nekonečná množina časových okamžiků.*

Náhodný proces  $X$  lze chápat jako funkci proměnných  $t \in T$  a  $\omega \in \Omega$ , jehož funkční hodnota  $X(t, \omega)$  je pro pevné  $t$  náhodnou veličinou a pro pevné  $\omega \in \Omega$  realizací náhodného procesu. Je-li v definici náhodného procesu množina  $T$  diskrétní, tj.  $T = \{t_1, t_2, \dots\}$  nazývá se náhodný proces procesem s diskrétním časem nebo též náhodnou posloupností.

Výše uvedené definice jsou čerpány z [40]. Více informací o vlastnostech zobrazení a teorii pravděpodobnosti, konkrétně o pravděpodobnostních jevech, pravděpodobnostním prostoru, náhodných veličinách, náhodných procesech a jejich vlastnostech, lze nalézt tamtéž.

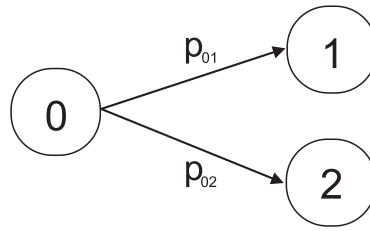
K vymezení abstraktního systému definující učení je třeba určit třídu všech atributů (příznaků) systému, jejichž variabilita bude předmětem zkoumání. Některé atributy systému jsou statické, jiné dynamické. Atributy, které jsou sledovány v úloze učení jsou dynamické, tj. obecně proměnné v čase, proto variabilita atributů bude reprezentována proměnnými atributů  $u$  (úspěšnost) a  $\tau$  (obecně latence). Zkoumanými atributy jsou konkrétně úspěšnost  $u$  a čas nalezení ostrůvku  $\tau$  v případě kognitivního testování a úspěšnost  $u$  a okamžik pádu z nářadí  $\tau$  při testování motorickém (s výjimkou testu "pád"). Oba zmiňované atributy mají charakter náhodné veličiny.

Atributy nabývají nejvýše spočetně hodnot, změna hodnoty atributů je skoková. Jedná se proto o systém diskrétní v události a změnu atributů lze označit jako událost.

Proces učení je z hlediska prováděných experimentů náhodným procesem s diskrétním časem. Jakýkoliv provedený motorický či kognitivní test lze definovat třístavovým modelem uvedeným na Obr. 2.1. Událost odpovídá při každém testu přechodu z počátečního stavu (stav 0) do jednoho z koncových stavů (stav 1 či 2). Námi sledovaný systém je tímto možné popsat souborem atributů  $y_k$ , který přísluší časovému okamžiku  $t_k \in T$ . Tzn.  $k$ -tou událost lze popsat uspořádanou dvojicí  $[y_k, t_k]$ , kde je tato událost považována za výsledek provedeného testu, potřebný z hlediska zkoumání procesu učení. Množina  $T$  je konečná neprázdná množina časových okamžiků  $t_k$  pro  $k = 1, 2, \dots, M$ , kde  $M$  je počet provedených testů, na níž je definováno úplné ostré uspořádání ( $t_1 < t_2 < \dots < t_M$ ).

Soubor atributů  $y_k = [u_k, \tau_k]$  nabývá hodnot  $v_j \in V_j$  pro  $j = 0, 1, 2, \dots, n$ , kde  $V_j$  je množina, obsahující všechny hodnoty, jichž může  $y_k$  nabývat, tj. hodnotu atributu  $u$  příslušného koncového stavu a dobu vstupu do příslušného stavu  $\tau \leq t_{lim}$  s. Hodnota  $t_{lim}$  závisí na zvolené metodě měření.

Pro snažší pochopení následujícího textu jsou stručně popsány základní metodiky experimentů. Motorické testy jsou zaměřeny na schopnost jedince udržet se na vodorovně napjatém drátu, na šikmém žebříku, na rotujícím válci či na lávce po metodicky definovanou dobu. Test je úspěšný, pokud jedinec nespadne z nářadí. Speciálním motorickým testem je měření



Obr. 2.1: Třístavový model jakéhokoliv testu během kognitivního a motorického testování

schopnosti myši dopadnout na všechny 4 končetiny. Kognitivní test probíhá v Morrisově vodním bludišti, kde jedinec hledá v daném časovém limitu ponořený ostrůvek v kruhovém bludišti (bazénu). Test je úspěšný, pokud jej včas najde. Podrobnější popis metod měření a testování nervových funkcí myších jedinců je uveden v kap. 3.

Atribut úspěšnost  $u$  tedy vyjadřuje, zda myš plave v bludišti v případě kognitivního testu či zda se drží na nářadí v případě testu motorického ( $u = 0$ ). Změna atributu odpovídá situaci, kdy jedinec bludiště či nářadí opustí, ať už nalezením ostrůvku či pádem z nářadí, tj. dojde k přechodu do stavu  $u = 1$ , nebo jeho opuštěním (vyndáním z MWM, sundáním z nářadí) po dosažení času  $t_{lim}$  dle metodiky experimentů ( $u = 2$ ). Čili jedná se o přechod do jednoho z koncových stavů v určitém čase  $\tau$ . V případě testu pádu je počáteční stav upuštění jedince ( $u = 0$ ) a koncový stav odpovídá způsobu jeho dopadu – dobře ( $u = 1$ ), špatně ( $u = 2$ ), časový údaj zde nemá žádnou roli.

Pravděpodobnosti přechodů mezi jednotlivými stavy jsou dány maticí:

$$\mathbb{P} = \begin{bmatrix} p_{00} & p_{01} & p_{02} \\ p_{10} & p_{11} & p_{12} \\ p_{20} & p_{21} & p_{22} \end{bmatrix} \quad (2.1)$$

kde  $p_{ij}$  je pravděpodobnost přechodu z hodnoty  $v_i$  do  $v_j$ . Pokud je událost definována jako změna atributu  $u$ , pak je  $p_{ii} = 0$  pro stavy  $i \in \{0, 1, 2\}$ . Z principu modelu zobrazeném na Obr. 2.1 a metodiky experimentu je zřejmé, že  $p_{10} = p_{12} = p_{20} = p_{21} = 0$  a platí  $p_{01} + p_{02} = 1$ , kde pravděpodobnost  $p_{01}$  značí pravděpodobnost úspěchu v testu kognitivním a neúspěchu v testu motorickém.

Trajektorii procesu učení pro jednoho jedince (1 realizace procesu) lze poté popsat funkcí:

$$f([y_k, t_k] | [y_{k-1}, t_{k-1}], \dots, [y_1, t_1]) \quad (2.2)$$

Z pohledu analýz procesu učení dle jednotlivých faktorů na základě provedených experimentů je potřebná informace o celé vybrané skupině, tj. zajímá nás informace o úspěchu v daném testu, tj.  $p_{01} = P[X < t_{lim}]$  a časové rozložení opuštění počátečního stavu, tj. distribuce  $\forall n \in 1, \dots, N : [y_{k,n}, t_k]$ , kde  $N$  je počet jedinců ve vybrané skupině v časových

okamžicích  $t_k = t_1, \dots, t_M$  pro  $M$  počet testů (měření) v daném experimentu. Měřením je v práci rozumněna hodnota testu, každý experiment je tvořen několika po sobě jdoucími testy.

Celkový proces učení v definovaných skupinách je poté:

$$f([y_{k,n}, t_k] | [y_{k-1,n}, t_{k-1}], \dots, [y_{1,n}, t_1]) \text{ pro } n = 1, \dots, N \text{ a } k = 1, \dots, M. \quad (2.3)$$

## 2.2 Definování úlohy

Následující formální funkční vztah vyjadřuje vliv jednotlivých faktorů v průběhu experimentů souvisejících s testováním motorických a kognitivních funkcí jedince:

$$y(t_k) = f(s, m, g, v, x, t_k; y(t_{k-1}), \dots, y(1)), \quad (2.4)$$

tj.  $y(t) = f(\text{kmen, porucha, pohlaví, ovlivnění, metoda, číslo testu; předchozí stavy})$

kde

- $y$  výstup experimentu – úspěšnost, okamžik nalezení ostrůvku či pádu z náradí (popř. rychlost či dráha)
- $t_k$  časový okamžik – pořadové číslo testu
- $s$  kmen myši – anglické C3H (podmíněno slepotou) a belgické C57Bl/7
- $m$  přítomnost neurodegenerativního onemocnění (typ myši) – zdravý typ Wild a mutantní myš typu Lurcher
- $g$  pohlaví myši – mužské a ženské
- $v$  druh ovlivnění:
  - látka – podmíněno množstvím, dobou podání
  - transplantace – podmíněna typem transplantátu, úspěšností
  - magnetické pole – podmíněno dobou expozice
- $x$  metoda experimentu (více viz kapitola 3):
  - metody motorického testování:
    - hrazda
    - žebřík
    - válec (rotarod)
    - lávka
    - pád – pouze vyhodnocení úspěšnosti
  - MWM – podmíněno stavem před zahájením pokusu, počátečními podmínkami pokusu a daného dne
  - open-field
  - audiogenní epilepsie

Je dobré si uvědomit (dle vztahu (2.4)), že model procesu učení by měl být založen nejen na biologických principech procesu učení, ale také významně na již zrealizovaných experimentech. Proto je nutné, aby interpretace výsledků experimentů byla co nejpřesnější.

### 2.3 Metody měření (vyhodnocení), definování, redukce a eliminace chyb – základní otázky

Z testů motorického a prostorového učení prováděných na laboratorních zvířatech je třeba získat co nejvíce vypovídajících informací o vlivu daných faktorů (nejen při výzkumu neurodegenerativních onemocnění). Pro zjištění citlivosti procesu učení na jednotlivé faktory je proto vhodné formulovat základní otázky. Ze standardně formulovaných otázek, týkající se nejen konkrétních faktorů, ale i daných metod měření experimentů, je vhodné zaměřit se především na tyto:

1. Jaký je vzájemný vztah procesu učení a excitability CNS?
2. Jak je charakterizován proces učení typem kmene, druhem poruchy a pohlavím při daném experimentu?
3. Jaký je vztah celkových motorických schopností k výsledkům jednotlivých metod testování? Jaká metoda je nejvíce vypovídající?
4. Je pro vyhodnocení motorických schopností jedinců dostatečně vypovídající jedna provedená série testů (4x za sebou)?
5. Jak ovlivňují proces učení počáteční podmínky experimentu a využití apriori informace?
6. Jaký vliv na učení má změna podmínek během prováděného experimentu?

Při vyvozování závěrů získaných odpověďmi na výše uvedené otázky je nutné dávat pozor na správnou interpretaci získaných výsledků. Je však nutné zaměřit se na problematiku měření a vyhodnocování prováděných experimentů i z jiného úhlu a položit si otázky nové, jako např.:

1. Jsou vhodně zvoleny (resp. dostatečně vypovídající) vyhodnocovací metody? Jak moc vypovídá daná metoda vyhodnocení o procesu učení?
2. Jaký informační přínos má každý následující test daného experimentu? Kdy už je rozdíl vypovídající?

### 2.3 Metody měření (vyhodnocení), definování, redukce a eliminace chyb – základní otázky

3. Jak se vyvíjejí závislosti (i v čase) při využití různých metod, je možné mluvit o kauzalitě?
4. Jaké nové informace nám přinese analýza chyb?
5. Jsou experimenty prováděny na dostatečně hutném vzorku zvířecích jedinců?
6. Jakých se při pokusech dopouštíme kvalitativních chyb?

Provedené analýzy potřebné k získání odpovědí by měly přinést prohloubení znalostí vztahů a upřesnit hodnoty informací daných experimentů.

### 3 Metody měření a testování nervových funkcí myších jedinců

Experimenty související s motorickým a prostorovým učením se provádějí na laboratorních myších typu Wild a mutant (Lurcher), které mají odlišný motorický deficit či limitace pro učení. Tato kapitola je zaměřena na popis konkrétních metod testování a prováděných experimentů, včetně jejich jednotlivých parametrů.

#### 1. Motorické testy [36]

- hrazda – schopnost udržet se na vodorovně napjatém drátu - příloha B, Obr. B.1a  
Myš je zavěšena předními končetinami na vodorovně napjatý drát (43 cm dlouhý, 1 mm široký) cca 30 cm nad deskou stolu pokrytou vrstvou buničiny. Kritériem úspěšnosti je setrvání na hrazdě po dobu 60 s (pokud myš vydrží na hrazdě 60 s, je sundána), popř. aktivní opuštění nářadí (sešplhání po sloupku, ke kterému je drát přichycen).
- žebřík – schopnost udržet se na šikmém žebříku - příloha B, Obr. B.1b  
Myš je umístěna do středu šikmého žebříku hlavou nahoru či dolů (30 cm dlouhý, 4 cm široký, 1 cm rozstup mezi žebřinami, sklon přibližně 50°, horní konec 24 cm nad plochou stolu). Má možnost vyšplhat na vodorovnou plošinku, kde se snáze udrží. Kritériem úspěšnosti je setrvání na žebříku po dobu 60 s (poté je sundána), popř. aktivní opuštění nářadí (sestup na plochu stolu).
- válec – schopnost udržet se na rotujícím válci (rotarodu) - příloha B, Obr. B.1c  
Válec o průměru 17 cm se otáčí rychlostí 1 ot/min. Myš je posazena na válec hlavou po směru (či proti směru) rotace. Kritériem úspěšnosti je setrvání na rotarodu po dobu 60 s (pokud nepadne, je sundána), popř. aktivní opuštění nářadí (vzácný je aktivní seskok, kdy myš vyskočí z válce do výšky).
- pád – schopnost myši dopadnout na všechny 4 končetiny (správný x špatný dopad)
- lávka – schopnost myši setrvat na lávce  
Myš umístěna napříč na vodorovnou lávku. Kritériem úspěšnosti je setrvání na lávce po dobu 120 s, popř. aktivní opuštění nářadí.

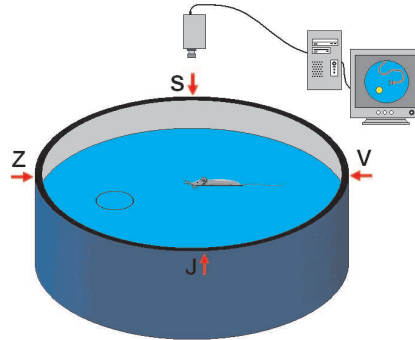
V některých pokusech proběhne jen jedno sezení, jindy se vyšetření motoriky opakuje, pro sledování motorického učení nebo vývoje motorických funkcí.

#### 2. Prostorové učení [22]

Používá se standardní metoda Morrisova vodního bludiště (MWM). Tato standardní



metoda se netýká myši s mozečkovou ataxií<sup>2</sup>. Princip experimentu je názorně ukázán na obrázku 3.1:



Obr. 3.1: Princip experimentu v Morrisově vodním bludišti (s ostrůvkem)

Myš hledá ponořený ostrůvek v kruhovém bazénu o průměru 95 cm. Ostrůvek má průměr 7.5 cm. Denně je myš vypouštěna do bludiště 4x, pokaždé z jiného startovního bodu. Startovní body pracovně označujeme světovými stranami (S, J, Z, V). Intervaly mezi starty jsou různé v různých pokusech, v jednom pokusu jsou samozřejmě konstantní. Myš má na nalezení ostrůvku 60 s. Pokud ho nenajde, je k němu dovedena. Na ostrůvku je ponechána vždy 30 s. Pokus se opakuje po několik dní (opět záleží na konkrétním pokusu). Měří se latence (doba, za kterou myš ostrůvek najde), délka dráhy, kterou při hledání uplave a průměrná rychlost plavání. Počítá se vždy průměrná hodnota ze čtyř startů provedených v daný den pokusu. Ostrůvek je nejčastěji uprostřed pomyslného JZ kvadrantu. Pokus má také variantu s ostrůvkem označeným praporkem. Obě varianty se mohou během pokusu měnit, dle cíle pokusu.

3. Open-field – testování chování (pohybu) v aréně, do které je myš vložena a nějakou dobu ponechána (jedná se o test ochoty prozkoumávání prostředí). Nejčastěji je měřena ušlá dráha za daný čas, čas strávený ve středu arény či na periferii [13].
4. Reakce vyhnutí (avoidance) – zvíře je posazeno na malou izolovanou lavičku, ze které dříve nebo později sestoupí na drátěnou podlahu s elektrickým napětím. Bolestivá stimulace donutí zvíře vrátit se na lavičku. Pokus se opakuje. Mírou schopnosti učení je zkrácení času, během kterého se zvíře trvale usadí na lavičce. V ideálním případě naučené zvíře lavičku vůbec neopustí [37].
5. Audiogenní epilepsie – reakce na 60 s zvonění, dělí se do několika stupňů:
  1. stupeň = žádná nebo orientačně pátrací

<sup>2</sup>porucha hybnosti způsobená onemocněním nervového systému (mozečku), projevuje se nesouměrností pohybů a jejich špatnou koordinací

2. stupeň = krátký běh, pobíhání
  3. stupeň = prudký běh, výskoky
  4. stupeň = tonicko-klonické křeče
  5. stupeň = tonicko-klonické křeče končící smrtí
- Při vzniku křečí je stimulace ukončena dříve.

#### 6. Klasické podmiňování [27]

Klasické podmiňování není předmětem zkoumání této práce, avšak souvisí s výzkumem prováděným ve spolupráci s Ústavem patofyziologie LF UK Plzeň a bylo též nutné se s problematikou seznámit. Níže uvedené pokusy byly provedeny na Oddělení neurověd University Pablo de Olavide profesorem Josém Maríou Delgado Garcíou.

Pokusným vzorem (paradigmatem) je *mrkací reflex*. Mrknutí je nepodmíněná reflexní reakce na mechanické nebo chemické podráždění rohovky a okolí oka. Mrkací reflex patří mezi důležité obranné reflexy (chrání oko před poškozením). Nepodmíněný podnět (US) bývá krátký proud vzduchu (fouknutí do oka) či elektrický impuls aplikovaný do oblasti *musculus orbicularis oculi*<sup>3</sup>, podmíněný (CS) zvuk tónu (např. 2400 Hz, 90 dB, 250 ms) nebo slabý elektrický impuls, který za normálních podmínek mrknutí nevyvolá. Opakovaným spojením obou podnětů se vypracuje podmíněný reflex a jedinec reaguje mrknutím na původně odlišný podnět, tj. podmiňování je založeno na propojení podmíněného a nepodmíněného podnětu. Registruje se přímo pohyb víčka nebo elektrická aktivita *musculus orbicularis oculi* (EMG<sup>4</sup>).

Každé zvíře absolvuje 2-4 habituačních (přivýkacích), 10 podmiňovacích a 4 vyhasínací "lekce". CS je aplikován jako první, US o 250 ms později. Jsou-li oba podněty elektrické, nepodmíněný podnět je silnější a trvá déle. Reakce se proto dostaví vždy. Tento pokus se provádí 60-krát a trvá zhruba 30 minut. Při vybavování a vyhasínání je aplikován pouze podnět podmíněný.

Zpracování výsledků tohoto testu je založeno na metodách zpracování signálu EMG.

Pozn: Výše uvedené experimenty se drží směrnic EU pro zacházení s laboratorními zvířaty a rovněž jsou schváleny Institucemi na ochranu zvířat.

---

<sup>3</sup>kruhový obličejový sval kolem oka

<sup>4</sup>elektromyografie – měření elektrofyzilogických projevů svalů

## 4 Metody měření a vyhodnocení biologických experimentů

### 4.1 Současné užívané metody

Při analýze biologického experimentu je vždy nutné si na základě předkládané hypotézy konkrétního experimentu zvolit vhodný statistický test pro daný experiment, pak jej aplikovat a na základě výstupů testu interpretovat výsledky. Standardní statistické analýzy biologického experimentu by měly postupovat v těchto krocích:

1. Specifikace biologické otázky, na kterou chceme prováděným experimentem odpovědět.
2. Biologická a současně statistická definice nulové a alternativní hypotézy.
3. Určení relevantních veličin pro zodpovězení otázky.
4. Určení typu jednotlivých veličin (měřitelná, nominální, ordinální, intervalová, poměrová, nejednoznačná).
5. V závislosti na počtu, typu veličin, předpokládaném způsobu aproximace a testované hypotéze provést výběr nejvhodnějšího statistického testu.
6. Pokud je to možné, provést analýzu mohutnosti pro určení dostatečného rozsahu souboru.
7. Provedení experimentu.
8. Posouzení a vyšetření výstupních dat experimentu z hlediska splnění předpokladů vybraného statistického testu (např. normalita, homogenita rozptylu). Popřípadě provést výběr vhodnějšího testu.
9. Provedení analýz dle zvoleného statistického testu a interpretace výsledků.
10. Efektivní znázornění výsledků, obvykle reprezentovány grafem nebo tabulkou.

Jedním z prvních kroků při rozhodování o výběru statistického testu je určení, jaké typy veličin se při experimentu vyskytují. V této části označujme obecnou náhodnou veličinu  $X$ , jelikož je tím míněna jakákoliv náhodná veličina vyšetřovaná při biologických experimentech.

Při znalosti příslušných veličin a nulové i alternativní hypotézy lze obvykle velmi snadno zjistit, jaký test by měl být použit. Např. pokud pro skupinu mužských a ženských jedinců bude veličinou  $X$  šířka hlavy v milimetrech, jedná se o veličinu měřitelnou, a v tomto případě je vhodné provést analýzu s využitím t-testu nebo analýzy rozptylu (ANOVA). Při nesplnění podmínek pro využití ANOVy lze též využít Kruskal-Wallisův test (tzn. neparametrickou obdobu). Pokud veličina  $X$  bude genotyp (AA, Aa nebo aa), jedná se o veličinu nominální

a pro porovnání genotypové frekvence je nejvhodnější využít Fisherův test,  $\chi$ -kvadrát test nebo G-test nezávislosti.

Při analýzách je potřeba více se zaměřit na veličiny měřitelné. Analýza těchto dat je složitější. K popisu datového souboru jsou užívané metody deskriptivní statistiky, jako např. metody určování číselných charakteristik náhodných veličin. Jedná se o popis pomocí střední hodnoty a směrodatné odchylky, pokud nás zajímá variabilita v daném datovém souboru, střední hodnoty a chyby této hodnoty, pokud jde o to, jak střední hodnota reprezentuje vybraný soubor.

Předpokladem je, že jde o náhodný výběr ze souboru s normálním rozdělením. Statistické testy vycházející z předpokladu normálního rozdělení se nazývají parametrické testy. Pokud rozložení veličiny neodpovídá normálnímu rozdělení, nelze soubor popsat jen uvedenými parametry a výsledky parametrického testu mohou být nepřesné. V takovém případě jsou data obvykle interpretována pomocí mediánu a mezikvartilového rozpětí a analyzována pomocí neparametrických testů, které jsou méně citlivé na odchylky od normality.

Pozn. 1: V literatuře pro zpracování experimentálních biologických dat není značení pro míru statistické disperze zcela ustálené, proto v textu nebude formálně rozlišována směrodatná odchylka a výběrová směrodatná odchylka. Vzhledem k častějšímu používání značení  $\sigma$  v lékařských textech, zde označení  $\sigma$  odpovídá výběrové směrodatné odchylce, pokud není uvedeno jinak. Současně s tím je používán pojem střední hodnota, ačkoliv se jedná o odhad střední hodnoty, tj. výběrový průměr reprezentovaný aritmetickým průměrem. U mediánu se opět jedná o hodnotu výběrového mediánu. Opět zmíněné platí, pokud není uvedeno jinak.

Pro vyšetření vlivu faktorů na jednotlivé veličiny se v případě korelovaných výstupů provádí vícerozměrná analýza rozptylu, avšak v případě porovnání výsledků testů je dostatečným způsobem vyhodnocení faktorů experimentu klasická analýza rozptylu (ANOVA) a  $\chi^2$  test pro určení statisticky významných rozdílů skupin.

Základní koncept pro testování hypotéz lze definovat takto (viz [28], [26]): Chceme ověřit určitou hypotézu. Jako hypotézu chápeme určitý předpoklad o rozdělení náhodných veličin. Rozdělení náhodné veličiny  $x$  je dáno funkcí  $F(x, \theta)$ , závislé na parametru  $\theta$ . Chceme testovat předpoklad  $\theta = \theta_0$  ( $H_0$  – nulová hypotéza) oproti  $\theta \neq \theta_0$  ( $H_1$  – alternativní hypotéza). Připouštíme-li, že v případě neplatnosti hypotézy  $H_0$  může být  $\theta < \theta_0$  nebo  $\theta > \theta_0$ , říkáme, že testujeme hypotézu  $H_0$  oproti oboustranné alternativě  $H_1 : \theta \neq \theta_0$ , tj. provádíme oboustranný test. V některých případech můžeme z teoretických důvodů jednu z nerovností předem vyloučit. V takovém případě testujeme hypotézu  $H_0$  oproti jednostranné alternativě  $H_1 : \theta < \theta_0$  nebo  $H_1 : \theta > \theta_0$  a mluvíme o jednostranném testu (angl. one-sided, resp. one-tailed test).

Rozhodnutí o zamítnutí či přijetí nulové hypotézy probíhá na základě realizace náhodného výběru  $X$  z  $x$ . Při rozhodování se lze dopustit chyb dvojího druhu:

chyba 1. druhu – hypotéza platí, ale je na základě experimentálně zjištěných hodnot zamítnuta

chyba 2. druhu – hypotéza neplatí, ale je na základě experimentálně zjištěných hodnot přijmuta

Prioritním požadavkem při testování hypotéz je co nejmenší pravděpodobnost chyby 1. druhu. Volí se proto malé číslo  $\alpha \in (0; 1)$ . Zvolené číslo  $\alpha$  se nazývá hladina významnosti testu a je požadováno, aby pravděpodobnost chyby 1. druhu při testování dané hypotézy nepřesáhla  $\alpha$  (obvykle se volí 0.05 nebo 0.01). Pro uvažovanou statistiku, pomocí které bude hypotéza testována, volíme tzv. kritický obor  $W$  tak, aby za předpokladu platnosti hypotézy byla pravděpodobnost, že uvažovaná statistika padne do kritického oboru, nejvýše rovna  $\alpha$ . Pokud hodnota zkoumané statistiky určené na základě realizace náhodného výběru leží v kritickém oboru, zamítneme uvažovanou hypotézu  $H_0$  na hladině významnosti  $\alpha$ , v opačném případě hypotézu nezamítneme.

Pozn. 2: V současné době je často udávána ve výsledcích tzv. p-hodnota (angl. p-level, resp. p-value) příslušné statistiky. Uvažovanou hypotézu lze zamítnout na hladině významnosti  $\alpha$ , právě když p-hodnota (hodnota pravděpodobnosti) příslušné statistiky je menší nebo rovna  $\alpha$ .

Uvedené testy a veličiny jsou pro výpočet definovány v příloze C. Výše uvedené informace jsou získány z [18], pokud není uvedeno jinak.

#### 4.1.1 Konkrétní metody pro analýzu kognitivních testů a testů motorické koordinace

Vzhledem k tomu, že zde uváděné a navrhované metody jsou apriori určené pro analýzu kognitivních testů a testů motorické koordinace v souvislosti s výzkumem neurodegenerativních chorob, je třeba zmínit, které z uvedených metod jsou v případě těchto experimentů běžně užívané. Metody se v tomto případě již týkají konkrétně náhodných veličin  $u$  a  $\tau$ .

V případě analýzy testů **motorické koordinace** je nejčastěji vyhodnocována střední hodnota a chyba střední hodnoty procentuální úspěšnosti  $u_p$  v dané sérii testů, poté občas střední hodnota  $\mu$  rozdělení náhodné veličiny  $\tau$  spolu s určením chyby střední hodnoty SEM pro určení doby pádu z náradí, viz [8]. Zmíněná procentuální úspěšnost  $u_p$  vychází ze změny atributu úspěšnosti  $u$ , tj. přechodu do stavu 1 či 2 dle modelu zobrazeném na Obr. 2.1, která vyjadřuje úspěch „ano“, „ne“. Je nutné poznamenat, že procentuální úspěšnost  $u_p$  pro každého jedince určuje, jaké procento testů v dané sérii vešlo do stavu  $u = 2$  („ano“), tj. jedná se o hodnotu pravděpodobnosti. V případě standardních metod měření motorických schopností se čtyřmi testy v sérii pak  $u_p$  nabývá hodnot  $u_p \in \{0, 0.25, 0.5, 0.75, 1\}$ .

Pro porovnávání motorických schopností vybraných skupin jedinců dle určitého faktoru je užíván Mann-Whitneyho  $U$  test, jak pro hodnocení procentuální úspěšnosti  $u_p$ , tak pro hodnocení veličiny  $\tau$  (času pádu z náradí). Jedná se o jeden z nejčastějších neparametrických testů statistické významnosti, který testuje hypotézu, že dva nezávislé náhodné výběry pocházejí ze stejného rozdělení (neparametrická obdoba dvouvýběrového  $t$ -testu). Tento test je definován:

$$U = N_1 N_2 + \frac{N_2(N_2 + 1)}{2} - \sum_{i=N_1+1}^{N_1+N_2} R_i, \quad (4.5)$$

kde  $U$  je hodnota statistiky,  $N_1$  je velikost prvního výběru,  $N_2$  je velikost druhého výběru a  $R_i$  je pořadí  $i$ -té hodnoty výběrů. Samozřejmým předpokladem je seřazený soubor všech hodnot obou výběrů. Za předpokladu  $N_1 \leq N_2$  platí, že pokud jsou soubory naprosto odlišné, hodnota statistiky  $U = 0$ . Za předpokladu  $N_1 > N_2$  platí pro naprosto odlišné soubory, že hodnota statistiky  $U = N_1 N_2$ . Pokud jsou naprosto stejné  $U = \frac{N_1 N_2}{2}$ . Pro velký počet pozorování lze rozdělení statistiky  $U$  aproximovat normálním rozdělením [10]. Je nutné zmínit, že úspěšnost se testuje na hladině významnosti  $\alpha = 0.01$  či  $\alpha = 0.02$  a doba pádu z náradí na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$ .

V případě analýzy **kognitivních testů v MWM** jsou též využívány metody určení číselných charakteristik náhodné veličiny  $\tau$ , konkrétně s využitím parametrů normálního rozdělení  $\mu \pm \text{SEM}$ . Metodou pro komplexní vyhodnocení a určení vzájemných vztahů mezi sledovanými parametry experimentu je analýza rozptylu. Vlivy jednotlivých kvalitativních faktorů jsou nejčastěji určovány post hoc Scheffe testem, resp. analýzou rozptylu (využívá při vyhodnocování statistické významnosti  $F$ -rozdělení), více viz např. [26]. Za hranici pro statistickou významnost se obecně bere hladina  $\alpha < 0.05$ . Je však možné stanovit si hladinu jinou, zpravidla nižší, např.  $\alpha < 0.01$ .

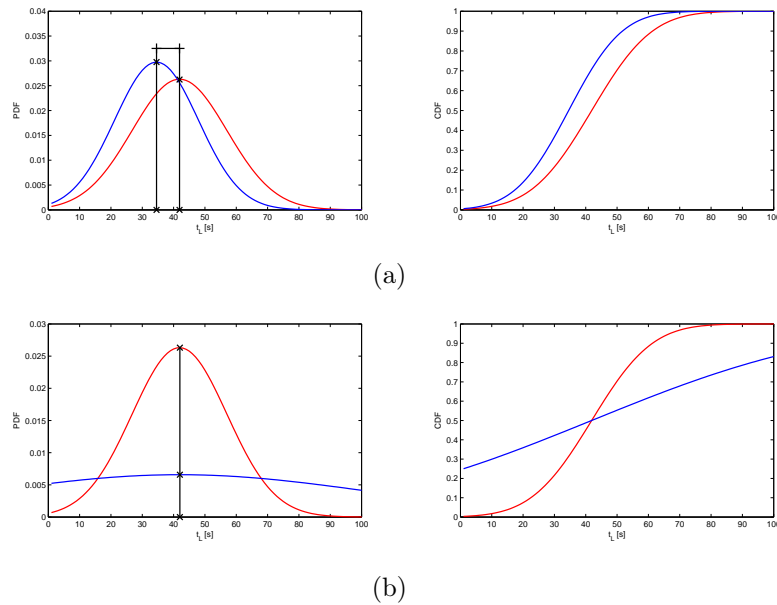
Konkrétní metody měření jsou popsány v předchozí 3. kapitole.

#### 4.1.2 Nedostatky standardních metod

Využívání standardních metod měření má své výhody i nevýhody. Při vyhodnocování uváděných typů biomedicínských experimentů je v praxi využíváno rozdělení četností, které se v mnoha testech blíží modelu normálního rozdělení. Používání aproximace normálním rozdělením vychází z toho, že normální rozdělení je skutečně nejčastějším rozdělením vyskytujícím se v přírodě, i když často se jedná jen o hrubou aproximaci.

Parametry normálního rozdělení jsou poměrně snadno matematicky odvoditelné a s jeho použitím lze dosáhnout užitečných výsledků. Proto se při vyhodnocení experimentů používá především první moment normálního rozdělení, even. druhý nebo SEM. Je však potřebné si uvě-

domit, že porovnávání měření pomocí prvního momentu normálního rozdělení může v některých případech podávat zkreslené výsledky, např. v případě dvou měření uvedených na Obr. 4.1(b).



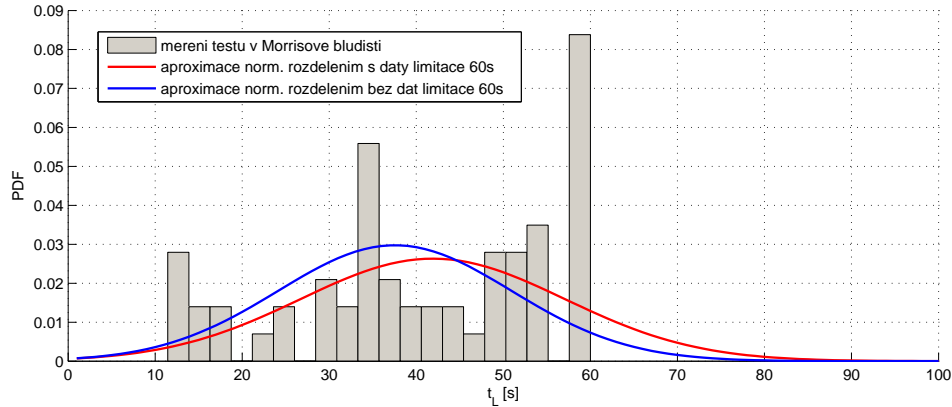
Obr. 4.1: Hustota pravděpodobnosti (PDF) a distribuční funkce (CDF) pro dvě odlišná měření (a) s odlišnou střední hodnotou a (b) se stejnou střední hodnotou

Samotná informace o střední hodnotě bez uvedení směrodatné odchylky může být zavádějící. Na tomto místě je proto také nutné zmínit, že je důležité vědět, jakou informaci chceme z experimentu získat, tj. je-li častější hodnocení pomocí SEM zvoleno uvážlivě. SEM popisuje neurčitost odhadu střední hodnoty vybraného vzorku reprezentujícího střední hodnotu celé populace. Směrodatná odchylka popisuje variabilitu mezi jednotlivci ve vybraném vzorku. Použití nesprávně zvoleného parametru je při vyhodnocování biomedicínských studií velmi časté, viz [25].

Výše uvedené mohou podat odpovědi na základní hypotézy experimentu, ale rozhodně nejsou postačující k úplné interpretaci výsledků. Nikde není řečeno, kolik jedinců dosáhlo maximální hranice či naopak minimální, jak moc ovlivní apriori informace následné výsledky, apod. Je nutno podotknout, že výběr konkrétního způsobu vyhodnocení záleží na konkrétních hypotézách daného experimentu a při nevhodně zvoleném postupu chyba metody vyhodnocení a měření odpovídá odchylkám uvedeným v kapitole 5.

V případě metod měření kognitivních (MWM) a motorických testů je třeba si uvědomit, že uváděné momenty jsou silně ovlivněny limitací experimentu  $t_{lim}$ . Nevýhodou při interpretaci výsledků vyplývající z výše uvedeného je nutnost odhadu rozložení dat v čase od uvedené limitace  $t_{lim}$ . Použití matematického modelu normálního rozdělení není zcela vhodné, dokonce ani po eliminaci právě zmíněných limitujících dat. Na Obr. 4.2 je pro představu uveden normovaný histogram jednoho testu v MWM a hustota pravděpodobnosti pro apro-

ximaci normálním rozdělení se zařazením dat  $t_{lim} = 60$  s ( $\mu = 40.8898, \sigma = 15.1621$ ) a jejich odstraněním ( $\mu = 36.5354, \sigma = 13.4099$ ).



Obr. 4.2: Hustota pravděpodobnosti pro data včetně limitace 60 s a s eliminací limitace.

Normovaný histogram naměřených dat uvedených v obrázku 4.2 odpovídá obecně velké nevyváženosti dat při prováděném testování kognitivních schopností, pro které nejsou standardní metody zcela vyhovující. Časový údaj  $t_L$  v grafu značí dobu nalezení ostrůvku (tj. latenci). Návrhy na inovaci metod, stále však s využitím aproximace normálním rozdělením, jsou uvedeny v následující podkapitole.

### 4.1.3 Návrhy na inovaci metod za využití aproximace normálním rozdělením

Tato část práce je zaměřena na možné inovace běžně užívaných metod při měření a vyhodnocování testů kognitivních a motorických funkcí. Motivací této kapitoly je obdržet z naměřených dat získaných dle stávajících metodik prováděných experimentů více informací za použití standardních vyhodnocovacích softwarových nástrojů. Nebude se jednat o „revoluční“ zásahy do postupů, ale spíše o doporučení na jejich zlepšení či rozšíření s využitím stávajících způsobů měření, tj. především využití dalších možností deskriptivní statistiky (za využití aproximace normálním rozdělením). Zde uvedenými přístupy by mohly být rozšířeny využívané standardní metody využívající aproximaci normálním rozdělením.

Vzhledem k různým užívaným metodám testování nervových funkcí myší (s několika různými výstupními proměnnými) by bylo vhodné jako první náhled na daný experiment provést korelační analýzu, která není běžně realizována. Díky ní lze určit, jak spjaté jsou výstupy měření (prováděného experimentu) a zda je nutné se zabývat všemi uvedenými (měřenými). Samozřejmě je nutné podotknout, že záleží na hypotézách daného experimentu, na co konkrétně se chceme zaměřit či zda jde o komplexní vyhodnocení daného myšního biologického modelu.

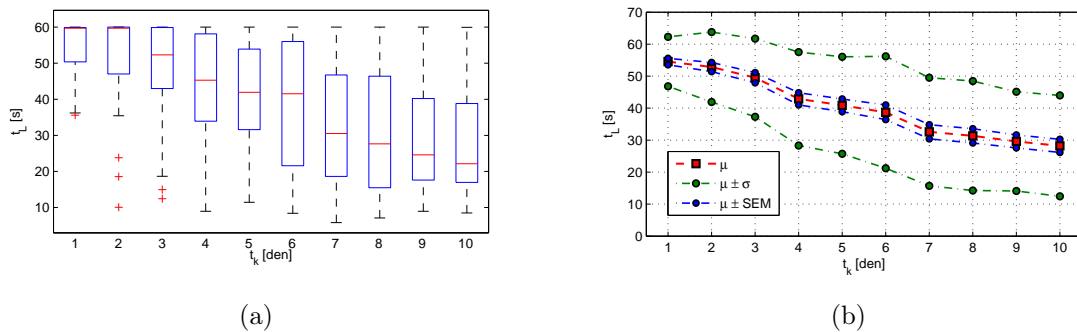
Samotné korelace nám nemohou dát dostatečné informace o neurálních procesech, avšak



mohou redukovat počet proměnných dostačujících k popisu zkoumaných procesů. Teoreticky nás též zajímá vzájemný vztah mezi různými metodami testování (např. motorickými a kognitivními testy či open-field), pokud jsou oba realizovány během jednoho experimentu. Vzhledem k nejednotnosti doby trvání jednotlivých testů, jsou však tato data neporovnatelná. Problémem by mohla být správná interpretace výsledků.

Dalším krokem by mělo být získání prvotní informace o síle vlivu jednotlivých faktorů (především v případě celkového vyhodnocení). Tento krok je záměrně uveden před samotnou interpretací výsledků, aby bylo možné zaměřit se na nejdůležitější faktory experimentu, resp. vzít v úvahu faktory, které ovlivňují testovanou hypotézu. Vzhledem k tomu, že běžně používanou metodou je analýza rozptylu (testování hypotézy rovnosti středních hodnot různých skupin náhodného výběru, meziskupinové a vnitroskupinové variability), k vyhodnocení vlivu faktorů se tato metoda dá také použít. Pokud by na začátku vyhodnocení experimentu nebyla provedena uvedená analýza, mohlo by dojít k nesprávným (zkresleným) závěrům, resp. jednalo by se o nesprávnou interpretaci výsledků (např. bychom chtěli analyzovat vliv provedení transplantace na motorické schopnosti jedinců, ale nevzali bychom v úvahu vliv silnějšího faktoru, kterým je typ tréninku).

Jak již bylo uvedeno, závěry zkoumaných testů jsou odvozovány pomocí statistických parametrů vhodných pro popis vyvážených dat, i když pro testování hypotéz jsou používány neparametrické testy statistické významnosti. Naměřená data by proto měla být raději interpretována pomocí *metod méně citlivých na odchylky od normality*, tj. místo střední hodnoty a rozptylu či SEM využívat mediánu a mezikvartilového rozpětí.



Obr. 4.3: Možné způsoby interpretace výstupů kognitivního testu v MWM probíhajícího v 10 dnech: (a) Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrémny, odlehlé hodnoty; (b) Střední hodnota  $\mu$ , rozptyl  $\sigma$ , chyba průměru SEM

Vhodným způsobem interpretace jsou boxploty, které graficky znázorňují medián, 25% a 75% kvantily (okraje boxů), oblast k nejextrémnějším datovým hodnotám, které ještě nejsou považovány za odlehlé, a samostatně vykreslené extrémní hodnoty (viz Obr. 4.3(a)). Konkrétně u motorických testů přímo naměřené výsledky (hrubé skóre) mají malou informační hodnotu, liší se podle jednotlivých testů a veličin, proto by bylo vhodné je převádět na

skóre odvozená (částečně je toto řešeno vyhodnocováním úspěšnosti testu). Nejjednodušším způsobem je využití percentilového pořadí, kde medián je považován za nejčastěji používanou percentilovou normu [19].

Shrneme-li tuto podkapitolu, jsou zde popsány inovační přístupy k vyhodnocení, pro jejichž využití není třeba zasahovat do samotných metodik měření experimentů. Lze je odborníky snadno použít a interpretovat jejich výstupy za pomoci stávajících prostředků odborníkům dostupných. Konkrétně se tedy jedná o využití korelační analýzy pro zjištění minimálního nutného množství vyhodnocovaných proměnných či nutného počtu testů během prováděného experimentu, zhodnocení ovlivňujících faktorů dle analýzy rozptylu či o interpretaci měřených dat za pomoci metod méně citlivých na odchylky od normality. A to vše bez zásahů do způsobů měření a s menšími zásahy do způsobu vyhodnocení.

## 4.2 Metody aproximace empirických dat teoretickým rozdělením

Vzhledem k výše zmíněnému je vhodnější nalézt takové rozdělení, jehož aproximace empirických dat přesněji popisuje rozdělení pravděpodobnosti daného měření či využít charakteristik náhodných veličin jednotlivých sledovaných atributů –  $u$  a  $\tau$ . Atribut úspěšnost  $u$  je plně popsán pravděpodobnostmi  $p_{01}$  či  $p_{02}$  (viz vztah (2.1)). Pro rekonstrukci dat a identifikaci parametrů atributu  $\tau$  a definování jeho odchylek lze využít charakteristik, jako jsou např. distribuční funkce  $F(x)$  (CDF) a hustota pravděpodobnosti  $f(x)$  (PDF). Dále uvedené vztahy je možné nalézt v [26], pokud není uvedeno jinak.

Konkretizujme obecnou náhodnou veličinu  $X$  jako sledovanou náhodnou veličinu  $\tau$ , jejíž realizace odpovídá okamžiku nalezení ostrůvku či pádu z nářadí dle metody testování a proměnnou  $x$  nadále označujeme  $t_L$ .

Pozn. 3: Písmeno  $L$  v proměnné  $t_L$  neznačí index jako např.  $k$  u časového údaje  $t_k$  konkrétního provedení testu, pouze poukazuje na to, že se jedná o časový údaj latence.

Distribuční funkce  $F(t_L)$  je tímto pro náhodnou veličinu  $\tau$  definována vztahem:

$$F(t_L) = P[\tau \leq t_L] \text{ pro } t_L \in \langle 0, t_{lim} \rangle, \quad (4.6)$$

kde  $P[\tau \leq t_L]$  je pravděpodobnost, že hodnota náhodné veličiny  $\tau$  bude menší nebo rovna než hodnota  $t_L$ ,  $t_{lim}$  značí limitní čas dle metodiky experimentu.

Aby bylo možno porovnávat jednotlivé testy a celkově popsat proces učení, je nutné zvolit aproximaci vhodným rozdělením. Tato aproximace má vzhledem k limitaci hodnocených experimentů časem  $t_{lim}$  sloužit pro odhad distribuční funkce pro useknutá pozorování, tj. pro určení rozdělení pravděpodobnosti po časovém limitu  $t_{lim}$ :

$$\hat{F}(t_{L+}|t_L) \text{ pro } t_L \in \langle 0, t_{lim} \rangle, t_{L+} \in \langle t_{lim}; \infty \rangle. \quad (4.7)$$

V následujících kapitolách je také užíván pojem doplňková distribuční funkce, čímž je v případě této práce myšleno  $1 - P[\tau \leq t_L]$  pro  $t_L \in \langle 0, t_{lim} \rangle$ .

Pro rozdělení spojitě náhodné veličiny  $\tau$  lze též využít hustotu pravděpodobnosti  $f(z)$ , která je za předpokladu spojitě diferencovatelnosti  $F(t_L)$  dána vztahem:

$$F(t_L) = \int_{-\infty}^{t_L} f(z) dz. \quad (4.8)$$

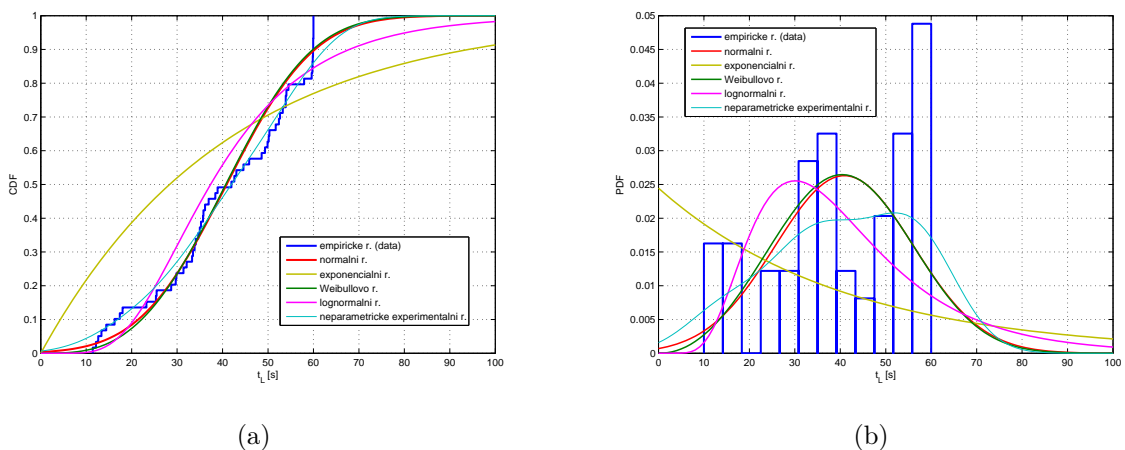
Je třeba si uvědomit, že platí:

$$\int_{\Omega} f(z) dz = 1, \quad (4.9)$$

kde  $\Omega$  je zobrazovací prostor veličiny  $\tau$ .

Z matematické podstaty distribuční funkce a hustota pravděpodobnosti přesněji popisuje měřený datový soubor. Jejich využití je velmi vhodné při porovnávání jednotlivých datových souborů i změn v rámci jednoho datového souboru. Lze je např. využít pokud bychom chtěli porovnat dva principy hodnocení úspěšnosti motorických testů popisující proces učení, tj. vývoj pravděpodobnosti  $p_{02}$  charakterizující náhodnou veličinu  $u$  či vývoj procentuální úspěšnosti  $u_p$ . Principiálně jsou tyto dva pohledy nesrovnatelné.

Výhodou hodnocení pomocí procentuální úspěšnosti je částečná eliminace náhody (výkyvů) během daného série testů, nevýhodou je nerespektování dynamiky po sobě jdoucích testů v dané sérii. Druhý způsob, tj. vývoj pravděpodobností, tuto dynamiku respektuje. Jelikož se vyhodnocuje proces učení, dynamika nejen mezi sériemi, ale i mezi jednotlivými měřeními zde hraje významnou roli. Pokud bychom chtěli tyto pohledy alespoň rámcově porovnat, lze uvést např. právě změny v distribučních funkcích.



Obr. 4.4: Možné způsoby aproximace dat získaných empirickým měřením: (a) distribuční funkce a (b) hustota pravděpodobnosti

Na obrázku 4.4 jsou uvedeny příklady některých možných aproximací vybranými rozděleními. Níže jsou popsána ta rozdělení, která budou v práci podrobněji zkoumána z hlediska

jejich využití pro vyhodnocování motorických a kognitivních testů, resp. procesu učení. Konkrétně jsou definovány funkce hustoty pravděpodobnosti daných rozdělení pro  $t_L \geq 0$ , jelikož  $t_L$  nemůže z principu nabývat záporných hodnot (jedná se o čas).

- normální rozdělení

$$f(t_L|\mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(t_L-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (4.10)$$

- exponenciální rozdělení

$$f(t_L|\lambda) = \lambda e^{-\lambda t_L}, \quad \lambda > 0 \quad (4.11)$$

- Weibullovo rozdělení

$$f(t_L|\alpha, \beta) = \alpha t_L^{\beta-1} e^{-\frac{\alpha t_L^\beta}{\beta}}, \quad \alpha > 0, \beta > 0 \quad (4.12)$$

- Coxovo fázové rozdělení [9]

$$f(t_L|S, S_0, \alpha) = \alpha e^{t_L S} S_0, \quad (4.13)$$

kde

$$\alpha = [1, 0, 0, \dots, 0]$$

$$S = \begin{bmatrix} -\lambda_1 & \lambda_1(1 - \beta_1) & 0 & \dots & 0 \\ 0 & -\lambda_2 & \lambda_2(1 - \beta_2) & \dots & 0 \\ 0 & 0 & -\lambda_3 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \dots & -\lambda_n \end{bmatrix}$$

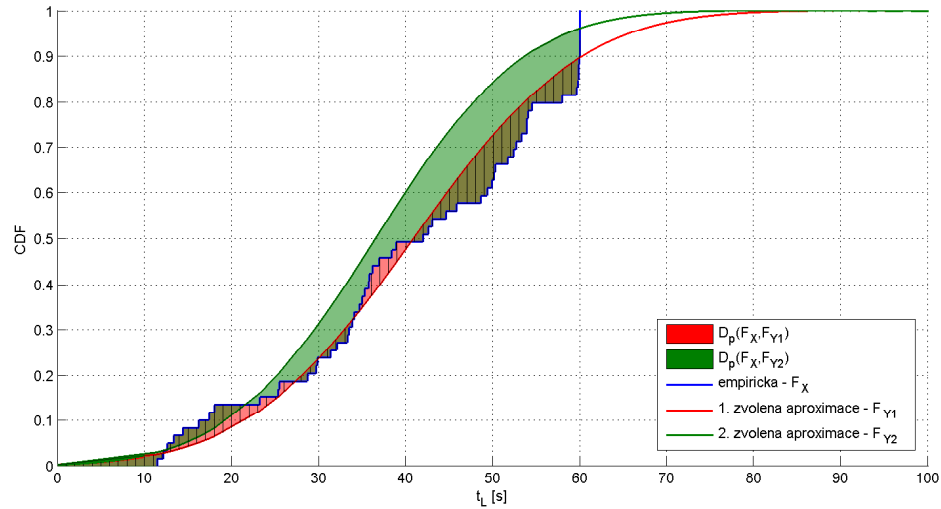
$$S_0 = [\beta_1 \lambda_1, \beta_2 \lambda_2, \dots, \beta_n \lambda_n]^T$$

a  $\lambda_i$  je intenzita setrvání ve stavu  $s_i$ ,  $\beta_i$  pravděpodobnost přechodu ze stavu  $s_i$  do stavu absorpčního (stav, kde pravděpodobnost setrvání ve stavu je rovna 1).

Jednotlivé aproximace je nutno porovnat a zvolit, která je pro danou metodiku (prováděný experiment) nejvíce vhodná. Pro porovnání distribučních funkcí zvolených aproximací lze využít hodnocení pravděpodobnostní (hodnocení v ose  $y$ ) nebo hodnocení v jednotkách náhodné veličiny (hodnocení v ose  $x$ ), viz kap. 4.3 a 4.4.

### 4.3 Hodnocení v pravděpodobnosti

Jedním ze zmíněných způsobů výběru vhodné aproximace dle distribuční funkce je využití pravděpodobnostního přístupu, tj. hodnocení statistické vzdálenosti pravděpodobnosti v  $y$ -ové souřadnici empirické distribuční funkce a zvolené aproximace. Na níže uvedeném obrázku jsou pro ilustraci vybrané dva možné způsoby aproximace.



Obr. 4.5: Dva různé způsoby aproximace měření s ilustrací pravděpodobnostního přístupu hodnocení

V tomto případě lze určit statistickou vzdálenost mezi aproximací a empirickým měřením v jednotlivých časových okamžicích (tedy po jednotlivých kvantilech).

Označme empirickou distribuční funkci diskrétní náhodné veličiny  $X$  (realizovanou  $\tau$ ) jako  $F_X(t_L)$  a distribuční funkci zvolené aproximace jako  $F_Y(t_L)$  (na Obr. 4.5 zobrazeny 2 varianty aproximace  $F_Y(t_L)$ , tj.  $F_{Y_1}(t_L)$  a  $F_{Y_2}(t_L)$ ). Potom statistická vzdálenost mezi empirickou distribuční funkcí  $F_X(t_L)$  definovanou vztahem:

$$F_X(t_L) = P[X \leq t_L] = \sum_{x_i \leq t_L} P[X = x_i] \quad \text{pro } \forall i, i \in I \text{ a } t_L \in \langle 0, t_{lim} \rangle \quad (4.14)$$

kde  $I$  značí množinu indexů kvantilů, a distribuční funkcí  $F_Y(t_L)$  spojitě náhodné veličiny  $Y$  je dána ve výpočetním tvaru:

$$D_p(F_X, F_Y) = \sum_{i \in I} |F_X(x_i) - F_Y(x_i)| \quad (4.15)$$

kde  $I$  je množina indexů dělení distribuční funkce  $F_Y$  pro výpočet míry  $D_p$  vyšetřované oblasti.

Hodnocení vzdálenosti zvolené aproximace není jediná oblast při vyhodnocování výsledků experimentů, kde lze využít hodnocení v pravděpodobnosti. Obdobně lze tento přístup využít při určování vzdáleností jednotlivých distribučních funkcí náhodných veličin, v případě práce především  $F_Y(t_L)$  z hlediska zkoumání procesu učení (vzdálenost od referenčního stavu), tj.

$$D_p(F_k, F_{ref}) = \int_0^{t_{lim}} |F_k(z) - F_{ref}(z)| dz \quad (4.16)$$

kde  $F_k$  je vyšetřovaná distribuční funkce v čase  $t_k$ , pro niž je žádáno určit vzdálenost od referenční distribuční funkce  $F_{ref}(z)$ .

$F_{ref}(z)$  v této práci odpovídá nejčastěji distribuční funkci prvního testu (tj.  $F_{ref}(z) = F_1(z)$ ), pak vztah (4.16) platí pro  $k = 2, \dots, M$ , kde  $M$  je počet provedených testů) nebo apriori definované distribuční funkci (vztah (4.16) platí pro  $k = \text{apriori} + 1, \dots, M$ ) či v případě porovnávání aproximací různými rozděleními distribuční funkci referenční aproximace pro  $k = 1, \dots, M$ .

Vzhledem k tomu, že  $D_p(F_k, F_{ref})$  ze vztahu (4.16) odpovídá ploše mezi jednotlivými distribučními funkcemi, je nutno pro vyhodnocení procesu učení zavést ukazatel učení-zapomínání  $g(t_k)$ , tj.

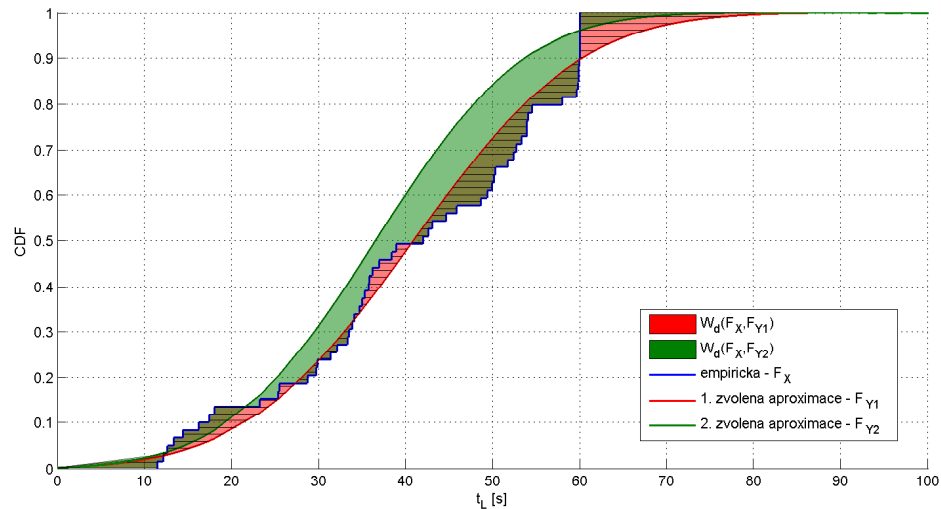
$$g(t_k) = \begin{cases} 1 & \text{pro } \int_0^{t_{lim}} F_k(z) dz < \int_0^{t_{lim}} F_{ref}(z) dz \\ 0 & \text{pro } \int_0^{t_{lim}} F_k(z) dz = \int_0^{t_{lim}} F_{ref}(z) dz \\ -1 & \text{pro } \int_0^{t_{lim}} F_k(z) dz > \int_0^{t_{lim}} F_{ref}(z) dz \end{cases}, \quad (4.17)$$

kde hodnota  $g = 1$  odpovídá u testování motorického učení, hodnota  $g = -1$  zapomínání. U testování kognitivního je tomu přesně naopak, tj. hodnota  $g = 1$  odpovídá zapomínání, hodnota  $g = -1$  učení, jelikož učení je definováno ne nárůstem, ale naopak poklesem  $t_L$ .

V následujících analýzách budou používány vztahy (4.15) a (4.16).

#### 4.4 Hodnocení v jednotkách náhodné veličiny

Druhým možným přístupem je hodnotit daný experiment v jednotkách náhodné veličiny. V případě námi hodnocených testů se jedná o hodnocení v čase, což odpovídá standardnímu způsobu hodnocení, kde jsou též výstupy experimentu interpretovány v sekundách. Níže uvedeným způsobem můžeme též vyhodnotit vhodnost aproximace.



Obr. 4.6: Dva různé způsoby aproximace měření s ilustrací přístupu hodnocení v jednotkách náhodné proměnné

Navržený způsob vyhodnocení spočívá ve využití určité metriky, definované pomocí teorií o vzdálenostech mezi trajektoriemi v pravděpodobnostním prostoru  $\Omega$ , tj. pomocí určité pravděpodobnostní míry.

Nechť  $P_1$  a  $P_2$  jsou dvě pravděpodobnostní míry z  $\mathbb{P}_p(\Omega, d)$ . Předpokládejme libovolné  $p$  takové, že  $1 \leq p < \infty$  a označme  $\mathbb{P}_p(\Omega, d)$  množinu pravděpodobnostních mír z  $\Omega$  s vlastností, že existuje  $\eta \in \Omega$  takové, že  $\int_{\Omega} d(\omega, \eta)^p dP_i(\omega)$  je konečné. Nechť  $P_1$  a  $P_2$  jsou dvě pravděpodobnostní míry z  $\mathbb{P}_p(\Omega, d)$ . Pro hodnocení v jednotkách náhodné proměnné, tj. určení vzdálenosti mezi  $P_1$  a  $P_2$ , byla zvolena Wassersteinova pseudometrika, která je dána níže uvedenou definicí, převzatou z [34]:

**Definice 3** Wassersteinova pseudometrika  $W_d$  mezi dvěma pravděpodobnostními mírami  $P_1$  a  $P_2$  na množině  $\Omega$  s metrikou  $d$  je dána vztahem:

$$W_d(P_1, P_2) = \left( \inf_{Q \in J(P_1, P_2)} \int_{\Omega \times \Omega} d(\omega, \eta)^p dQ(\omega, \eta) \right)^{1/p} \quad (4.18)$$

kde  $\omega, \eta \in \Omega : \mathbb{R}^{\geq 0} \rightarrow Y$ ,  $Y$  je množina všech přípustných výstupů;  $Q$  je prvkem množiny  $J(P_1, P_2)$ , tj. množiny všech možných sdružených distribucí  $P_1$  a  $P_2$ , a  $p$  je tzv.  $p$ -norma.

Požadovanou vlastností metriky  $d : \Omega \times \Omega \rightarrow \mathbb{R}^{\geq 0}$  je nulovost v případě  $\omega = \eta$  a platnost vlastností  $d(\omega, \eta) \geq 0$  a  $d(\omega, \phi) + d(\phi, \eta) \geq d(\omega, \eta)$ .

Pro jednorozměrnou náhodnou veličinu, tj. jednorozměrnou metriku  $d$ , je pro jakékoli  $1 \leq p < \infty$  Wassersteinova pseudometrika  $W_d^p$  dána [34]:

$$W_d^p(P_1, P_2) = \left( \int_0^1 |F_{P_1}^{-1}(y) - F_{P_2}^{-1}(y)|^p dy \right)^{1/p} \quad (4.19)$$

kde  $F_P^{-1}(y)$  je inverzní distribuční funkce k funkci  $F(x)$ . Důkaz platnosti pro  $p = 1$  je uveden v [38]. Z výše uvedeného je zřejmé, že Wassersteinova pseudometrika  $W_d^1$  je oblast mezi inverzními distribučními funkcemi danými dvěma pravděpodobnostními mírami  $P_1$  a  $P_2$ .

Pro účely této práce je postačující jednorozměrná metrika  $d$  s  $p$ -normou rovnou 1. Uvedené vztahy (4.18), resp. (4.19), jsou definovány pro dvě spojitě náhodné veličiny. Pro využití při hodnocení experimentu je potřebné dokázat, že tyto dva vztahy jsou platné i pro dvě náhodné veličiny, z nichž jedna je diskrétní a druhá spojitá. Poté bude možno Wassersteinovu míru využít pro určení statistické vzdálenosti mezi empirickou funkcí získanou měřením a zvolenou aproximací.

Značení  $F_X(t_L)$  i nadále odpovídá empirické distribuční funkci veličiny  $X$  (realizované  $\tau$ ) a  $F_Y(t_L)$  distribuční funkci zvolené aproximace. Diskrétní distribuční funkce je tudíž  $F_X(t_L)$  a  $F_Y(t_L)$  je spojitá. V dalším textu je uveden upravený vztah (4.18) s využitím již  $F_X$  a  $F_Y$ .

Mějme diskrétní náhodnou veličinu  $X$  danou:

$$P(X = x_i) = \begin{cases} p_i & \text{pro } i \in I \\ 0 & \text{jinak} \end{cases} \quad (4.20)$$

Wassersteinova míra mezi  $F_X$  a  $F_Y$  je dána jako:

$$W_d(F_X, F_Y) = \inf_{Q \in J(F_X, F_Y)} \int_{\Omega \times \Omega} |y - x| dQ(y, x). \quad (4.21)$$

Pro následující výpočty byl vztah (4.21) modifikován dle potřeb hodnocení experimentu, jak ukazuje následující věta.

**Věta 4.1** *Definujme inverzní distribuční funkci pro diskrétní náhodnou veličinu  $X$  jako*

$$F_X^{-1} = \min\{x \in \{x_1, \dots, x_n\} \mid F_X(x) \geq z\}. \quad (4.22)$$

*Wassersteinova metrika je poté dána:*

$$W_d(F_X, F_Y) = \int_0^1 |F_X^{-1}(z) - F_Y^{-1}(z)| dz. \quad (4.23)$$

**Důkaz**

$$W_d(F_X, F_Y) = \inf_{Q_{Y|X} \in J_{Y|X}} \sum_{i=1}^n \int_{-\infty}^{\infty} |x_i - y| dQ_{Y|X}(y | x_i) p_i dy. \quad (4.24)$$

kde  $J_{Y|X}$  je soubor všech podmíněných pravděpodobností takových, že

$$\sum_{i=1}^n dQ_{y|x_i}(y | x_i) p_i = f_Y(y) \text{ a } \int_{-\infty}^{\infty} dQ_{y|x_i}(y | x_i) dy = 1.$$

Lze dokázat, že infima je dosaženo pomocí podmíněného rozdělení, kde každé hodnotě  $x_i$  náleží číslo z jedinečného intervalu  $\langle m_i, M_i \rangle$ . Kombinací výše uvedených rovnic pak vyplývá, že musí být splněno  $F_Y(M_i) - F_Y(m_i) = p_i$ . Tímto je splněna definice inverzní distribuční funkce  $F_X^{-1}$ , tj. je definována hodnota  $X$  a  $Y$  pro každou hodnotu  $z \in \langle 0, 1 \rangle$ .

Dále je třeba odvodit výraz pro Wassersteinovu metricku. Nechť pro jakékoliv  $y$  je  $x_y \in \{x_1, \dots, x_n\}$  odpovídající hodnota  $x$ . Je třeba připomenout, že  $dQ_{y|x_y} = F_Y(y)/p_y$ . Platí následující rovnost.

$$W_d(F_X, F_Y) = \int_{-\infty}^{\infty} |x_y - y| dF_Y(y) dy. \quad (4.25)$$

Transformací proměnné  $y = F_Y^{-1}(z)$  dostaneme dokazovaný vztah (4.23):

$$W_d(F_X, F_Y) = \int_0^1 \inf_{i \in \{1, \dots, n\}} |x_i - F_Y^{-1}(z)| dz = \int_0^1 |F_X^{-1}(z) - F_Y^{-1}(z)| dz. \quad (4.26)$$



□

Připomněme, že odpovídající sdružená pravděpodobnost je dána vztahem

$$P_{Y,X}(y, x_i) = \begin{cases} f_Y(y) & \text{pro } y \in \langle F_Y^{-1}(F_X(x_{i-1})), F_Y^{-1}(F_X(x_i)) \rangle \\ 0 & \text{jinak} \end{cases} \quad (4.27)$$

Tato metrika není v modelování procesů v biologii běžně využita, avšak lze ji nalézt např. jako metodu pro hodnocení vzdálenosti stochastických procesů na buněčné úrovni, viz [34].

Míru  $W_d$  lze též kromě vhodnosti aproximace využít při vyhodnocování výsledku experimentu obdobně jako hodnocení v pravděpodobnosti z hlediska zkoumání procesu učení, tj. pro určování vzdálenosti od referenčního stavu (obdobně jako u  $D_p$ ):

$$W_d(F_k, F_{ref}) = \int_0^1 |F_k^{-1}(z) - F_{ref}^{-1}(z)| dz, \quad (4.28)$$

kde  $F_k^{-1}$  je vyšetřovaná inverzní distribuční funkce v čase  $t_k$ , pro niž je žádáno určit vzdálenost od referenční inverzní distribuční funkce  $F_{ref}^{-1}(z)$ .  $F_{ref}^{-1}(z)$  je volena způsobem odpovídajícím volbě pro míru  $D_p(\cdot)$  dle vztahu (4.16), stejně tak je pro hodnocení procesu učení dle této míry nutné zavedení parametru učení-zapomínání  $g(t_k)$ , viz vztah 4.17.

V následujících analýzách budou používány vztahy (4.23) a (4.28).

## 4.5 Informační přínos experimentu

V případě vyhodnocování měření je vhodné zaměřit se na informační přínos experimentu, především pro stanovení potřebného množství prováděných testů v rámci jednoho experimentu, resp. pro zjištění, kdy rozdíl mezi jednotlivými testy je ještě vypovídající a kdy je již jeho přínos minimální. Kromě informačního přínosu může též přinést podstatné informace vydatnost a kvalita učení.

### 4.5.1 Míra informace a míra neurčitosti

Nejprve je nutné definovat základní pojmy teorie informace. Množství informace  $I(X)$  obsažené ve zprávě  $X$  je dáno tím, jaká je pravděpodobnost výskytu dané zprávy před jejím přijetím [33], tj. míra informace je definována:

$$I(X) = f \left[ \frac{1}{p(X)} \right], \quad (4.29)$$

konkrétně:

$$I(X) = \log_2 \frac{1}{p(X)} = -\log_2 p(X) = \quad (4.30)$$

$$= -\frac{\log_{10} p(X)}{\log_{10} 2} = 3.32 \log p(X), \quad (4.31)$$

kde  $I(X)$  je míra informace a  $p(X)$  pravděpodobnost výskytu konkrétního stavu před dalším testem experimentu. Pro určení míry informace je nutné předem znát množinu všech možných stavů daného testu. Před přijetím zprávy o výsledku testu existuje neurčitost, jakého výsledku se při testu dosáhne. Přijetím zprávy je pak tato neurčitost odstraněna. Míra informace  $I(X)$  je tedy rovna míře neurčitosti  $H(X)$ , kterou zpráva odstraní.

Zde je vhodné poznamenat, že pokud  $p(X) = 1$ , tj. informace je jistá, je míra informace  $I(X) = 0$ , tj. nenese žádnou novou informaci.

U motorického testování je možno na informační přínos experimentu pohlížet ze dvou úhlů. První možností je nahlížet na motorické testování v rámci jednoho komplexního testu a vyhodnocovat informační přínos každé následující užití testovací metody (hrazda, žebřík, válec, popř. pád), druhou možností je vyhodnocovat experiment postupně po jednotlivých testovacích metodách ve všech časových okamžicích  $t_k$ .

Nechť je v čase  $t_k$  proveden motorický test na hrazdě  $X$ , žebříku  $Y$  a válci  $Z$  (v uvedeném pořadí). Pro nezávislé jevy platí:

$$I(X, Y, Z) = I(X) + I(Y) + I(Z), \quad (4.32)$$

jednotlivé testy na nářadí v rámci jednoho motorického testu jsou však závislé. Vztah (4.32) tudíž nelze použít a je nutné použít přístup uvedený dále.

Míra neurčitosti testu na druhém nářadí v pořadí je tímto dána:

$$H(Y|x_i) = - \sum_{i=1}^m p(y_i|x_i) \cdot \log_2 p(y_i|x_i), \quad (4.33)$$

kde  $m$  určuje počet možných stavů, kterých může nabývat  $Y$ ;  $X$  nabývá při testu stavu  $x_i$ ,  $Y$  stavu  $y_i$ . V případě veličiny  $X$  i  $Y$  realizované jako úspěšnost  $u$ , mohou  $x_i$ , resp.  $y_i$ , nabývat dvou hodnot, a to konkrétně  $u = 1$  a  $u = 2$ , tj.

$$H(Y|X = 1) = -p(y_i|X = 1) \cdot \log_2 p(y_i|X = 1) + p(y_i|X = 2) \cdot \log_2 p(y_i|X = 2), \quad (4.34)$$

Průměrnou míru informace testu  $Y$  při znalosti stavu testu  $X$  je poté možno určit jako:

$$I(Y|X) = \sum_{i=1}^m p(X = x_i) \cdot \log_2 p(Y|x_i), \quad (4.35)$$

Zde jen poznamejme, že pro závislé veličiny platí:  $I(Y|X) \leq I(Y)$ .

Z pohledu informačního přínosu jednotlivých testů v rámci experimentu při testování na jednom konkrétním nářadí či v rámci experimentu prostorového učení (MWM) lze definovat:

$$I(t_k|t_{k-1}) = I(t_k) - I(t_{k-1}) \quad (4.36)$$

kde  $t_k$  značí časový údaj testu experimentu,  $I(t_k|t_{k-1})$  informační přínos testu v čase  $t_k$  oproti testu v čase  $t_{k-1}$  testu a  $I(t_k)$  míru informace testu prováděném v čase  $t_k$ .

Informační přínos  $I(t_k|t_{k-1})$  komplexních testů provedeného experimentu motorických schopností je určován analogicky s tím rozdílem, že motorický test v čase  $t_k$  je definován soustavou stavů dle všech testovacích metod (nářadí).

#### 4.5.2 Vydatnost a kvalita učení

Mimo informačního přínosu je též vhodné určit vydatnost učení, které definuje, jak rychle se učení zvyšuje či snižuje (zapomínání).

Pro náhodnou veličinu úspěšnost  $u$  definovanou pravděpodobnostmi  $p$  lze určit:

$$r(t_k|t_{k-1}) = u(t_k) - u(t_{k-1}), \quad (4.37)$$

kde  $r(t_k|t_{k-1})$  značí vydatnost učení a  $u(t_k)$  hodnotu učení v čase  $t_k$ .

Zde uvedené je platné nejen pro veličinu  $u$ , ale též pro veličinu  $t_L$  za využití odhadu střední hodnoty či hodnocení pravděpodobnosti  $D_p$  (viz vztah (4.16)) a v jednotkách náhodné veličiny  $W_d$  (viz vztah (4.28)).

V případě veličiny úspěšnost, je z důvodu její definice pomocí pravděpodobností  $p(t_k)$ , vhodné určit míru učení/zapomínání  $V(t_k)$  z  $t_{k-1}$  do  $t_k$ , která je dána jako:

$$V(t_k) = -\log_2(1 - |r(t_k|t_{k-1})|), \quad (4.38)$$

kde  $r(t_k|t_{k-1})$  viz vztah (4.37) pro časový okamžik  $t_k$ .

Kvalita učení v experimentu značí posun ukazatele kvality  $\delta r_{t_k|t_{k-1}}$  mezi časovými okamžiky  $t_k$  a  $t_{k-1}$ :

$$\delta r_{t_k|t_{k-1}} = r(t_k|t_{k-1}) - r(t_{k-1}|t_{k-2}) \quad (4.39)$$

a její vývoj je dán změnou pravděpodobnosti  $p$  v případě veličiny  $u$  a střední hodnotou či  $D_p$  (viz vztah (4.16)),  $W_d$  (viz vztah (4.28)) v případě veličiny  $\tau$ . V případě úspěšnosti všech jedinců na všech nářadích při experimentech motorických schopností, stejně tak v případě dosažení limitní hodnoty ( $t_L = t_{lim}$  (60 s) u všech jedinců při testování v bludišti ve vybrané skupině v čase  $t_k$ , již není možné jakékoliv zlepšení schopností a jedinou možností je proto úprava metodiky experimentu, tzn. zvýšení limitace experimentu  $t_{lim}$ .

Vzhledem k tomu, že pro behaviorální test open-field není definován proces učení, není tímto pro tento test definována ani vydatnost a kvalita učení. Pro jeho vyhodnocení je ale možno využít metody využívané pro atribut  $\tau$ . Náhodnou veličinou je v tomto případě ušlá dráha  $s$  a potřebná hodnota  $s_{lim} = \infty$ . Obdobně lze přístupy využít i pro jiné náhodné veličiny, pro které není metodicky dána konkrétní limitace (např. rychlost).

## 5 Definování chyb a metody eliminace chyb měření (vyhodnocení)

Další část předkládané práce je zaměřena přímo na metodiku vyhodnocování chyb souvisejících s metodikou experimentu či vyhodnocováním experimentálních dat. Získávání dat a zpracování výsledků je limitováno mnoha faktory, které způsobují odchylky od skutečných hodnot (ať již jde o systematické chyby či přítomnost neurčitosti během provádění experimentu). Proto jedním ze základních cílů by měla být relevantní eliminace vznikajících chyb. V této kapitole jsou uvedeny vlivy znehodnocující výsledky obdržené užívanými metodami a jejich „přínos“ do interpretace výsledků. V této kapitole pouze definujeme chyby a odchylky a navrhneme metody eliminace. Konkrétní využití metod je demonstrováno na příkladech uvedených v kapitolách 6.3.3, 6.3.4 a na příloženém CD.

### 5.1 Důsledky různé (nevhodné) klasifikace dat

Při jakémkoliv způsobu interpretace výstupů měření je možné dopustit se chyb, které souvisejí s nevhodným způsobem třídění dat získaných z provedeného experimentu. Pokud je ve vybraném experimentu požadováno vyhodnocení vlivu vybraného faktoru (např. transplantace), je vhodné zjistit, zda je současně nutné zohlednit i daleko významnější faktor (např. trénink). K tomuto lze využít charakteristik aproximace normálním rozdělením náhodné veličiny  $\tau$ . Klasifikaci dle silnějších faktorů lze určit na základě kritéria  $J$ :

$$J = \left| \frac{1}{M} \sum_{t_k} \left( \frac{\mu_1(t_k)}{\sigma_1(t_k)} - \frac{\mu_2(t_k)}{\sigma_2(t_k)} \right) \right|, \quad (5.40)$$

kde  $M$  je počet provedených testů během experimentu,  $\mu_1(t_k)$  je odhad střední hodnoty a  $\sigma_1(t_k)$  je odhad směrodatné odchylky první porovnávané skupiny,  $\mu_2(t_k)$  je odhad střední hodnoty a  $\sigma_2(t_k)$  je odhad směrodatné odchylky druhé porovnávané skupiny, vše v čase  $t_k$ .

Na základě velikosti kritéria  $J$  lze určit, zda je nutno brát ohled na silnější faktory a do jaké hloubky. Pokud  $J > 0.1$ , není nutno provádět dělení souboru dle silnějších faktorů. Získané informace, tj. charakteristiky náhodných veličin, jsou dostatečně vypovídající. Pokud  $J \leq 0.1$ , při vyhodnocování experimentálních výsledků dojdeme k závěru, že není zřejmé, která skupina je v testu lepší, jak velký vliv má zjišťovaný faktor. Pokud však vezmeme ohled na silnější faktor a rozdělíme datový soubor do více skupin a znovu určíme hodnotu kritéria  $J$ , která momentálně bude již  $J > 0.1$ , výsledky měření budou jednoznačně interpretovatelné. Pokud bychom klasifikaci dle silnějších faktorů získaných dat neprovedli (při hodnotě  $J \leq 0.1$ ), jednoznačnou a přesnější informaci bychom neobdrželi.

Tohoto kritéria nelze využít, pokud  $\sigma = 0$ . V tuto chvíli se již nejedná o náhodný proces v čase  $t_k$ . Tato situace může během testování nastat a v takovémto případě není test  $t_k$

zahrnut (je omezen počet testů). Pokud bychom na základě apriori znalosti metodiky experimentu předpokládali situaci, kde by se popsaná situace vyskytovala příliš často, bylo by nutné využít jiného kritéria.

Zde je vhodné zmínit, že statisticky významný faktor je nutno při klasifikaci zahrnout vždy, pokud sám sledovaný faktor není statisticky nejvýznamnějším.

## 5.2 Odchylyky aproximací různým rozdělením a empirických dat

Nevhodnou aproximací se lze dopustit systematických chyb. Pro hodnocení vhodnosti aproximace můžeme použít přístup hodnocení v pravděpodobnosti nebo přístup hodnocení v jednotkách náhodné veličiny  $\tau$ . Obě tyto metody by měly dávat obdobné výsledky o vhodnosti aproximace. Aby byla pro interpretaci výsledků zvolena nejvhodnější varianta, musí mít vybraná aproximace celkovou minimální odchylku, tj. minimální statistickou vzdálenost, pro všechny testy provedené během experimentu (po jednotlivých testovacích metodách). Metodou hodnocení v pravděpodobnosti lze nejvhodnější aproximaci určit takto:

$$D_p(R) = \min\{D_p(A_i) \mid A_i \in \{A_1, \dots, A_z\}\} \quad (5.41)$$

$$\text{pro } D_p(A_i) = \frac{1}{M} \sum_{t_k} D_p(F_{A_i}, F_X | t_k),$$

kde  $M$  je počet provedených testů během experimentu,  $D_p(F_{A_i}, F_X | t_k)$  je určována dle vztahu (4.15) pro každý časový okamžik  $t_k$ ,  $F_X$  značí empirickou distribuční funkci náhodné veličiny  $X$ ,  $F_{A_i}$  distribuční funkci vybrané aproximace  $A_i$  (odpovídá tedy spojitě náhodné veličině  $Y$ ). Index  $i \in \{1, \dots, z\}$  označuje pořadí vybrané aproximace (např.  $A_1$  odpovídá aproximaci normálním rozdělením,  $A_2$  aproximaci exponenciálním rozdělením), tzn.  $z$  udává počet vybraných a porovnávaných aproximací.

Celková odchylka aproximace  $D_p(A_i)$  je určována přes všechny časové okamžiky  $t_k$  pro  $k = 1, 2, \dots, M$ , kde  $M$  je počet provedených testů během experimentu. Pro zjednodušení je uváděná celková odchylka značena pouze jako statistická vzdálenost vybrané aproximace  $D_p(A_i)$ .  $D_p(R)$  značí minimální statistickou vzdálenost pro všechny zvolené aproximace od empirické distribuční funkce. Poté za nejvhodnější aproximaci bude považována právě taková aproximace  $A_i$ , kdy  $D_p(R) = D_p(A_i)$ .

Pozn. 4: Pro určení vhodné aproximace se berou v úvahu jen měřitelné náhodné veličiny (v našem případě  $\tau$ ).

Tímto způsobem bude vybrána nejvhodnější aproximace na základě míry  $D_p$  (viz kapitola 4.3) pro jednotlivé testovací metody. Volba rozdělení předurčuje následné možnosti způsobu vyhodnocení experimentu (viz kapitola 6.3.3).

Pokud by byla požadována stejná aproximace pro více testovacích metod, např. v případě

motorického testování pro všechna nářadí se stejnými pravidly měření (válec, hrazda, žebřík), je nutné, aby  $F_X|t_k$  vycházela z měření získaných všemi zmíněnými testovacími metodami.

Analogicky pro hodnocení v jednotkách náhodné veličiny lze na základě vztahu (4.23) určit nejvhodnější aproximaci takto:

$$W_d(R) = \min\{W_d(A_i) \mid A_i \in \{A_1, \dots, A_z\}\} \quad (5.42)$$

$$\text{pro } W_d(A_i) = \frac{1}{M} \sum_{t_k} W_d(F_X, F_{A_i}|t_k),$$

kde význam proměnných je stejný jako výše.

Na základě minimální statistické vzdálenosti  $D_p(R)$  (viz vztah (5.41)), resp.  $W_d(R)$  (viz vztah (5.42)), je možné pro potřeby porovnání aproximací určit hodnoty odchylek všech ostatních aproximací danými rozděleními od nejvhodnější vybrané aproximace  $A_i$ , pro kterou platí  $D_p(R) = D_p(A_i)$ , resp.  $W_d(R) = W_d(A_i)$ . Označme tuto vybranou aproximaci jako  $R$  referenční pro výpočet odchylek. Odchylna aproximací je poté v každém jednotlivém časovém okamžiku  $t_k$ :

$$\Delta D_p(A_i|t_k) = |D_p(F_X, F_R|t_k) - D_p(F_X, F_{A_i}|t_k)| \quad (5.43)$$

$$\text{pro } i \in \{i \mid D_p(R) \neq D_p(A_i)\},$$

$$\text{resp. } \Delta W_d(A_i|t_k) = |W_d(F_X, F_R|t_k) - W_d(F_X, F_{A_i}|t_k)| \quad (5.44)$$

$$\text{pro } i \in \{i \mid W_d(R) \neq W_d(A_i)\},$$

kde distribuční funkce  $F_R$  je distribuční funkcí referenční aproximace. Význam ostatních proměnných viz výše.

Další možnou metodou pro porovnávání vhodnosti aproximace je pro stanovení odchylky (chyby) vybrané aproximace a naměřených experimentálních dat využití  $\chi^2$  kritéria (viz např. [18]).  $\chi^2$  testy jsou založeny na porovnávání rozdílnosti mezi naměřenými četnostmi a četnostmi ideálními (tzn. zvolené aproximace), či-li:

$$\chi^2(t_k) = \sum_{t_k} \sum_{i \in I} \frac{(O_i(t_k) - E_i(t_k))^2}{E_i(t_k)}, \quad (5.45)$$

kde  $I$  značí jednotlivé dané kroky výpočtu ve vyšetřované oblasti,  $E_i$  jsou teoretické četnosti dle zvolené aproximace a  $O_i$  naměřené četnosti (empirické pro daný test). Statistika měří vzdálenost mezi uvedenými četnostmi. Jsou-li četnosti stejné, statistika je rovná nule. Zvolenou metodikou pro porovnání výsledků  $\chi^2$  kritéria je velikost plochy pod křivkou (v diskretních časových okamžicích  $t_k$ ). Tato metoda je však ze svého principu použitelná pouze při dostatečně hutném souboru dat.

### 5.3 Odchytky způsobené zmenšujícím se množstvím dat

Část práce je zaměřena na citlivostní analýzu velikosti datového souboru. Tím je myšleno provedení analýzy odchylek a chyb, jakých je možno se dopustit při vyhodnocování provedených experimentů s využitím inbredních myších kmenů. Vzhledem k tomu, že i skupina s malým množstvím inbredních jedinců by měla poskytovat statisticky významné poznatky, je vhodné zaměřit se na sledování statistických parametrů na základě zmenšujícího se množství dat. Běžně je v literatuře uváděno, že pro každou testovací skupinu by mělo být minimální množství testovaných inbredních jedinců 6-10 (často užívaný počet je 8-10 jedinců).

Cílem uváděného testu je kromě ověření tvrzení o minimálním množství jedinců potřebných pro statisticky významné závěry určit, jakých odchylek se můžeme v případě vyhodnocování menšího množství dat v definovaném experimentu dopustit (z důvodu interpretace procentuálních odchylek). Při vyvozování závěrů z budoucích experimentů je nutno být si těchto odchylek vědom. Záměrně jsou v těchto datech ponechány i informace o jedincích, kteří celý experiment nedokončili, především z důvodu zachování konzistence dat. Takovéto informace se občas při experimentu objeví (např. jedinec během experimentu umře apod.).

Během každého testu pro zmenšující se množství dat je provedeno tisíc náhodných výběrů o velikosti  $l$  z celkového datového souboru (pokud je možno provést takovéto množství kombinací) a jsou sledovány změny statistických parametrů. Tyto výběry jsou pevně dané pro každé měření v čase  $t_k$  pro  $k = 1, \dots, M$ , kde  $M$  je počet všech provedených testů během experimentu. Počet možných  $l$ -členných kombinací z  $n$  prvků je definován:

$$K(l, n) = \frac{n!}{l!(n-l)!} \quad (5.46)$$

Pokud toto možné není, je počet provedených experimentů určen ze zaokrouhleného počtu možných kombinací na nejmenší možnou desítku. Postupně je vybíráno  $l = 6 \div 15$  jedinců z celkového souboru, poté  $l = 20, 25, 30, \dots$  jedinců až do 75% velikosti datového souboru a je provedena citlivostní analýza vzhledem k počtu jedinců. Je třeba podotknout, že analýzu je možné provádět pouze pro skupiny se stejnými vstupními parametry (např. skupina myši určitého kmene ovlivněnou určitým faktorem).

Při analýze atributu úspěšnost  $u$  je pro každé měření v čase  $t_k$  dána hodnota úspěšnosti pravděpodobností  $p_c$ . Zde je vhodné podotknout, že pro hodnotu  $p_c$  celkového datového souboru platí:  $p_c \approx \mu_p$ , kde  $\mu_p$  je odhad střední hodnoty všech náhodných výběrů daného množství jedinců. Pro každý náhodný výběr velikosti  $l$  je určena hodnota úspěšnosti  $p_i$ , kde  $i$  značí pořadový index výběru. Poté je určena chyba metody  $\epsilon_{p_l}$  jako analogie k chybě měřícího přístroje:

$$\epsilon_{p_l}(t_k) = \sum_{i \in I} \frac{|p_i(t_k) - \mu_p(t_k)|}{p_{max} - p_{min}} / \text{pocetExp} \cdot 100 [\%], \quad (5.47)$$

kde  $I$  je množina indexů všech náhodných výběrů velikosti  $l$ ,  $p_{max} - p_{min}$  odpovídá rozsahu hodnot, kterých může  $p_i$  nabývat a  $pocetExp$  je počet provedených náhodných výběrů.

Obdobně je pro všechny hodnoty  $p_i$  určena chyba měření  $\varepsilon_{p_i}(t_k)$ , tj.

$$\varepsilon_{p_i}(t_k) = \sum_{i \in I} \frac{|p_i(t_k) - \mu_p(t_k)|}{\mu_p(t_k)} / pocetExp \cdot 100 [\%], \quad (5.48)$$

kde proměnné odpovídají výše uvedeným.

Při analýze atributu  $\tau$  za využití standardních metod vyhodnocení je pro každé měření v čase  $t_k$  určen odhad střední hodnoty  $\mu_c(t_k)$  a chyby střední hodnoty  $SEM_c(t_k)$ . Pro každý náhodný výběr velikosti  $l$  je určen odhad střední hodnoty  $\mu_i(t_k)$  a její chyby  $SEM_i(t_k)$ . Poté je určena chyba metody  $\varepsilon_{\mu_i}(t_k)$ :

$$\begin{aligned} \varepsilon_{\mu_i}(t_k) = & \left( \sum_{i \in I_1} \frac{(\mu_i(t_k) - SEM_i(t_k)) - (\mu_c(t_k) + SEM_c(t_k))}{\mu_{max} - \mu_{min}} + \right. \\ & \left. + \sum_{i \in I_2} \frac{(\mu_c(t_k) - SEM_c(t_k)) - (\mu_i(t_k) + SEM_i(t_k))}{\mu_{max} - \mu_{min}} \right) / pocetExp \cdot 100 [\%], \end{aligned} \quad (5.49)$$

kde  $I_1$  je množina indexů náhodných výběrů, pro které platí, že  $(\mu_i(t_k) - SEM_i(t_k)) > (\mu_c(t_k) + SEM_c(t_k))$ ,  $I_2$  je množina indexů náhodných výběrů, pro které platí, že  $(\mu_i(t_k) + SEM_i(t_k)) < (\mu_c(t_k) - SEM_c(t_k))$  a  $\mu_{max} - \mu_{min}$  odpovídá rozsahu hodnot, kterých může  $\mu_i(t_k) \pm SEM_i(t_k)$  nabývat a  $pocetExp$  je počet provedených náhodných výběrů.

Obdobně je pro všechny hodnoty  $\mu_i(t_k) \pm SEM_i(t_k)$  určena chyba měření  $\varepsilon_{\mu_i}(t_k)$ , tj.

$$\begin{aligned} \varepsilon_{\mu_i}(t_k) = & \left( \sum_{i \in I_1} \frac{(\mu_i(t_k) - SEM_i(t_k)) - (\mu_c(t_k) + SEM_c(t_k))}{\mu_c(t_k) + SEM_c(t_k)} + \right. \\ & \left. + \sum_{i \in I_2} \frac{(\mu_c(t_k) - SEM_c(t_k)) - (\mu_i(t_k) + SEM_i(t_k))}{\mu_c(t_k) - SEM_c(t_k)} \right) / pocetExp \cdot 100 [\%], \end{aligned} \quad (5.50)$$

kde proměnné odpovídají výše uvedeným.

Z hodnot odchylek  $\varepsilon_{p_i}(t_k)$ ,  $\varepsilon_{\mu_i}(t_k)$ ,  $\varepsilon_{\mu_i}(t_k)$  a  $\varepsilon_{\mu_i}(t_k)$  ve všech časových okamžicích  $t_k$  jsou poté určeny maximální chyby metody a chyby měření pro daný experiment při daném počtu testovaných jedinců  $l$ .

Z pohledu hodnocení procesu učení za pomoci mír  $D_p(\cdot)$ , viz vztah (4.16), a  $W_d(\cdot)$ , viz vztah (4.28), zacházíme s chybami jako v případě analýzy atributu úspěšnost  $u$  (viz vztahy (5.47) a (5.48)). Za  $F_{ref}(z)$  je považována distribuční funkce prvního testu (tj.  $F_{ref}(z) = F_1(z)$ ), tudíž výpočet míry je pro  $k = 2, \dots, M$ . V případě určování chyb za pomoci míry  $D_p(\cdot)$  je za  $p_i$  dosazena hodnota  $D_{p_i}(F_k, F_{ref})$  náhodného výběru, pro míru  $W_d(\cdot)$  obdobně. Hodnota  $\mu_p(t_k)$  je v tomto případě nahrazena hodnotou  $D_p(F_k, F_{ref})$  či  $W_d(F_k, F_{ref})$  odpovídající hodnotě míry pro úplný datový soubor v čase  $t_k$ .



## 5.4 Odchylyky vyplývající z nevyužití apriori informace

Při realizaci biologického experimentu často není prováděno měření, pomocí kterého by bylo možné využít apriori informace o schopnostech jedinců. Jak vlastně lze potvrdit zvolenou hypotézu vlivu vybraného faktoru na působení kognitivních a motorických funkcí (proces učení), pokud nemáme k dispozici informaci o schopnostech jedinců před samotným působením faktoru? Standardní metodiky pro realizaci experimentů toto měření většinou nezahrnují. Analýza apriori má však velkou informační hodnotu.

Za apriori informaci lze definovat informace ze všech měření, která probíhají před aplikací ovlivňujícího faktoru. Tato měření jsou nadále považována za referenční pro korekci procesu učení po aplikaci ovlivňujícího faktoru. Pokud by v testovaných skupinách byl rozdíl ve schopnostech jedinců již před průběhem experimentu, resp. před ovlivněním jedinců, bez využití apriori informace není možné tento fakt oddělit od samotných měření vlivu faktoru.

Pokud je apriori informace k dispozici, je několik možností, jak ji při hodnocení experimentu využít. Níže jsou uvedeny tři možné přístupy využití, z nichž varianta první je založena na nárůstu vydatnosti učení, druhá na základě identifikovaného procesu učení před začátkem ovlivnění jedinců a třetí na sjednocení všech apriori měření.

*Využití apriori informace – Varianta 1.*

V případě atributu úspěšnost  $u$  lze na základě vztahu (4.37) určit:

$$\begin{aligned} r(t_{apriori,2}|t_{apriori,1}) &= p(t_{apriori,2}) - p(t_{apriori,1}), \\ r(t_{apriori,3}|t_{apriori,2}) &= p(t_{apriori,3}) - p(t_{apriori,2}), \\ &\vdots \\ r(t_{apriori,R}|t_{apriori,R-1}) &= p(t_{apriori,R}) - p(t_{apriori,R-1}) \end{aligned} \quad (5.51)$$

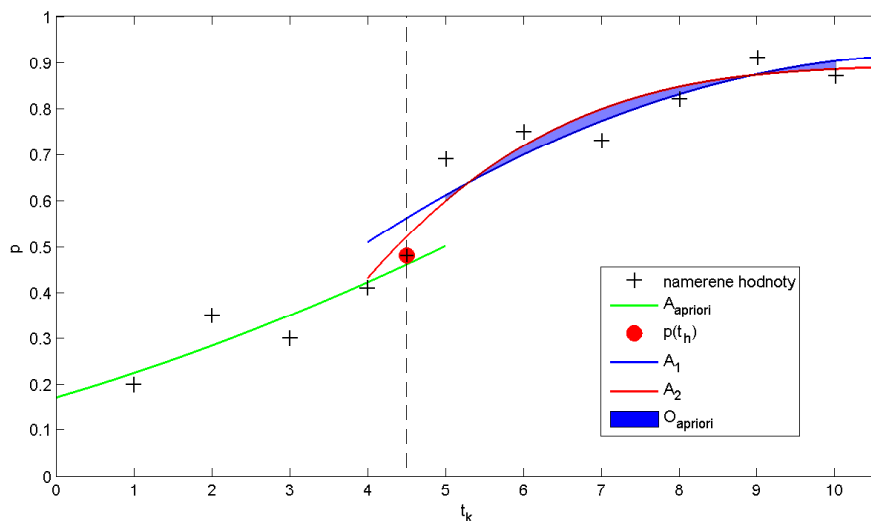
kde  $p(t_{apriori,i})$  značí příslušnou hodnotu úspěšnosti před aplikací ovlivňujícího faktoru (v závislosti na počtu provedených měření před aplikací  $i = 1, \dots, R$ ),  $R$  udává poslední apriori měření a  $r(t_{apriori,i})$  vydatnost učení daného apriori měření před samotným začátkem experimentu.

Na základě určených vydatností je proveden odhad hodnoty  $p(t_h)$ :

$$p(t_h) = p(t_{apriori,R}) + \frac{1}{2} \frac{\sum_{i=1}^R p(t_{apriori,i})}{R}, \quad (5.52)$$

kde  $t_h = \frac{t_{apriori,R} + t_{R+1}}{2}$  je mezikrok mezi posledním měřením před aplikací daného faktoru (v čase  $t_{apriori,R}$ ) a prvním po jeho aplikaci ( $t_{R+1}$ ).

Využití apriori informace získané čtyřmi měřeními uvedeným přístupem a určení odchylyky za využití a nevyužití apriori znalostí dle vztahu (5.55) uvedeného dále je ilustrováno na Obr. 5.1.



Obr. 5.1: Demonstrace využití apriori informace Varianta 1. pro určení odchylyky  $O_{apriori}$

#### Využití apriori informace – Varianta 2.

V případě atributu úspěšnost daného pravděpodobností  $p$  lze z měření oddělit příslušné hodnoty před aplikací ovlivňujícího faktoru  $p(t_{apriori,i})$  pro  $i = 1, \dots, R$ , tj. apriori informace. Z těchto dat lze interpolací metodou nejmenších čtverců identifikovat apriori proces učení  $A_{apriori}$ , tj. hodnoty  $A_{apriori}(t_k)$ , kde  $t_k$  je v tomto případě konkrétně  $t_{apriori,i}$ .

Na základě znalosti  $A_{apriori}(t_k)$  pro  $(k = 1, \dots, R)$  je proveden odhad hodnoty  $p(t_h) = A_{apriori}(t_h)$ , kde  $t_h = \frac{t_{apriori,R} + t_{R+1}}{2}$  je stejně jako v první variantě mezikrok mezi posledním měřením před aplikací daného faktoru a prvním po jeho aplikaci.

Využití apriori informace za pomoci identifikace apriori procesu učení a určení odchylyky je, obdobně jako pro variantu první, ilustrováno na Obr. 5.2.

Při využití obou verzí dále platí, že odhad  $p(t_h)$ , resp.  $A_{apriori}(t_h)$  je použit jako startovací bod pro identifikaci procesu učení po aplikaci ovlivňujícího faktoru.

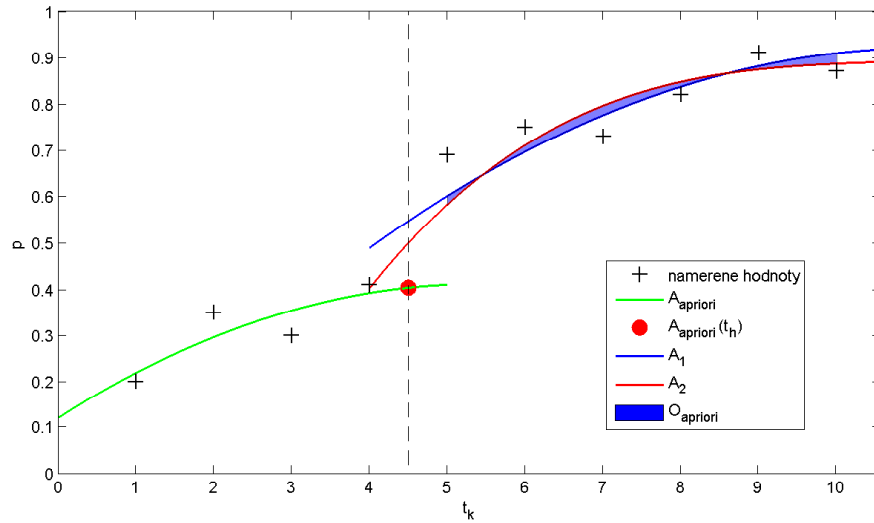
Pokud nejsou data o měření před aplikací ovlivňujícího faktoru k dispozici, není možné korektně určit vydatnost učení prvního testu experimentu (v čase  $t_k = t_{R+1}$ ), viz vztah (4.37):

$$r(t_{R+1}) = p(t_{R+1}) - p(t_h) \quad (5.53)$$

kde  $p(t_h)$  je dáno vztahem (5.52). V uvedeném případě (nemáme apriori informaci) je  $R = 0$  a současně  $p(t_h) \equiv 0$ . Pak vztah (5.53) přejde do tvaru:

$$r(t_{R+1}) = p(t_{R+1}), \text{ resp. } r(t_1) = p(t_1) \quad (5.54)$$

kde význam proměnných zůstává stejný. To by odpovídalo situaci, že všichni jedinci ve vybrané skupině nemají předem absolutně žádné požadované schopnosti. Toto je ale nereálné.



Obr. 5.2: Demonstrace využití apriori informace Varianta 2. pro určení odchylky  $O_{apriori}$

Celkový proces učení nemusí být proto správně identifikován, případně informace o učícím procesu mohou být nepřesné či zavádějící.

V případě jediného měření před aplikací ovlivňujícího faktoru je vhodné přiřadit  $p(t_h) = p(R)$  pro  $R = 1$ .

### Využití apriori informace – Varianta 3.

Třetí možnou variantou zacházení s apriori informací je určení startovacího bodu získaného z mediánů schopností jednotlivých jedinců z testů provedených před aplikací ovlivňujícího faktoru. Tímto však dojde k omezení informace z apriori procesu učení na verzi  $p(t_h) = p(R)$  pro  $R = 1$ . Tuto variantu je vhodné využít především v případě mír  $D_p(\cdot)$  dle vztahu (4.16) a  $W_d(\cdot)$  dle vztahu (4.28), jelikož z jejich definic je pro výpočet potřeba referenční distribuční funkce.

Jak vyplývá z výše uvedeného, nevyužitím apriori informace se lze při vyhodnocení experimentu dopustit chyb. Proto definujme odchylku procesu učení za využití/nevyužití apriori znalostí motorických a kognitivních schopností jako:

$$O_{apriori} = \int_{k=R+1}^M |A_1(t_k) - A_2(t_k)| dt_k \quad (5.55)$$

kde  $A_1(t_k)$  značí hodnotu identifikovaného procesu učení bez využití apriori informace v čase  $t_k$ ,  $A_2(t_k)$  hodnotu identifikovaného procesu učení s využitím apriori informace,  $R + 1$  udává první test po aplikaci faktoru a  $M$  je počet testů. Pro identifikaci procesu  $A_2$  je využit startovací bod ( $p(t_h)$ , resp.  $A_{apriori}(t_h)$ ), získaný na základě apriori informace, který je zahrnut

do souboru měření po aplikaci ovlivňujícího faktoru. Odchytky způsobená nevyužitím apriori informace je demonstrována na Obr. 5.1 a Obr. 5.2, kde je proces  $A_1$  znázorněn modře a proces  $A_2$  červeně.

S daty získanými měřeními před aplikací ovlivňujícího faktoru je možno zacházet stejně jako po aplikaci v případě využití metod uvedených v kapitole 4.

Je zřejmé, že zmíněné přístupy lze využít pouze při stále stejných počátečních podmínkách. V případě parametrů normálního rozdělení, tj. odhadu střední hodnoty, charakteristik SEM a směrodatné odchytky náhodné veličiny  $\tau$  je postup obdobný. Uvedený přístup lze také využít pro míru  $D_p(\cdot)$  ze vztahu (4.16), analogicky pro  $W_d(\cdot)$  ze vztahu (4.28).

Na závěr této kapitoly je třeba zmínit, že před využitím metod a přístupů uvedených v této kapitole je u některých experimentů nutný zásah do samotných metodik provádění těchto experimentů.

## 6 Demonstrace metod na vybraném experimentu

V této kapitole bude demonstrován způsob využití metod a přístupů popsaných v předchozích kapitolách. A to nejen standardně používané metody, ale také metody nově navržené. Dále budou určeny chyby s experimentem spojené. To vše cílené k získání odpovědí na dříve formulované otázky (viz kapitola 2.3).

Metody a přístupy byly aplikovány na všechny experimenty popsané v příloze A. Podrobný popis všech by ale značně zvýšil rozsah této práce, proto byl vybrán jeden experiment, na kterém jsou postupy demonstrovány. U všech ostatních jsou uvedeny závěry, které z analýz vyplynuly (viz kapitola 7).

Uvedený experiment byl záměrně vybrán pro demonstraci metod především z toho důvodu, že obsahuje informace potřebné pro analýzu řady zkoumaných aspektů, které mohou mít významný vliv na interpretaci výstupů experimentu.

### 6.1 Popis experimentu

Vybraný experiment byl zaměřen na testování nervových funkcí myši inbredního kmene C57Bl/7, tj. kognitivních i motorických schopností jedinců, po transplantaci mozečku. Dané funkce se testovaly s ohledem na ovlivnění tréninkem. Tím bylo od 11. do 55. dne po operaci buď plavání ve vodním bludišti (MWM) bez přítomnosti ostrůvku či trénink na válci po dobu 60 s. Při tréninku v MWM absolvoval každý jedinec každý všední den 8 plaveb postupně ze startovních bodů  $S_1, J_1, Z_1, V_1, S_2, J_2, Z_2, V_2$ . Mezi plavbami byla cca 10 minutová přestávka (střídáno 8 myší). Nervové funkce byly testovány několika metodami v uvedeném sledu, tj:

- před operací a 4., 8. a 10. týden po operaci – motorické testování:
  - hrazda, žebřík (hlavou nahoru), válec (hlavou po směru rotace)
  - kritérium 60 s, vše opakováno 4x v každé sérii (4 testy během jednoho pokusu)
  - registrována doba strávená na náradí v sekundách, popř. aktivní seskok či slezení
- 1.-10. den po skončení testů motoriky – kognitivní testování v MWM:
  - 4 starty denně (S, J, Z, V) – intervaly mezi starty cca 15 min (střídáno 8 myší)
  - ostrůvek umístěn v JZ kvadrantu
  - kritérium 60 s (max. délka jedné plavby), po každém testu 30 s na ostrůvku
  - registrována latence, délka dráhy, rychlost plavání + doba strávená ve středové zóně bludiště v 1. den tréninku a v 1. den učení (určován poměr k celkové době strávené v bludišti)

- den po posledním testu v MWM – open-field
  - myš vložena do středu arény čtvercové arény (40 cm x 40 cm) a ponechána v ní 5 min
  - registrována dráha
- poté testy na epilepsii

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 144 záznamů. U 88 jedinců byla provedena transplantace embryonálního mozečkového transplantátu, 56 jedinců sloužilo jako kontrolní. Ve skupině transplantovaných jedinců nebylo 44 ovlivněno tréninkem, 18 bylo trénováno plaváním a 26 na válci. Ve skupině kontrolní nebylo tréninkem ovlivněno 26 jedinců, 10 bylo trénováno plaváním a 20 na válci. Podrobněji je rozbor mohutnosti datového souboru dle jednotlivých faktorů uveden v Tab. A.7 v příloze A. Kromě již uvedených výstupů jednotlivých testů je pro každého testovaného jedince uvedena informace o tréninku (typ), číslo jedince, identifikace jedince, identifikace histologie, kmen jedince, jeho pohlaví, barva a věk, informace o typu operace, úspěšnosti a datu operace. Úspěšnost transplantace byla hodnocena dle přežití transplantátu, tj. zda byl při následné kontrole nalezen či nenalezen živý transplantát.

V souvislosti s degenerativním onemocněním nervového systému je stanovena hypotéza: *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností.*

## 6.2 Standardní způsob vyhodnocení experimentu

Zkoumanými atributy, tj. ohodnocovanými projevy, jsou v ukázkovém experimentu procentuální úspěšnost  $u_p$ <sup>5</sup> u motorických testů a okamžik nalezení ostrůvku  $\tau$  ( $t_L$ ) u kognitivního testu v MWM. Porovnávané skupiny jsou děleny dle provedené transplantace mozečku u trénovaných a netrénovaných myší, aby bylo možné prokázat či vyvrátit hypotézu, kterou označíme jako nulovou  $H_0$ .

Níže uvedený popis vyhodnocení experimentu odpovídá standardní interpretaci výsledků testování, běžně užívaný odborníky. Je zde uveden především proto, aby bylo poukázáno na nedostatky tohoto vyhodnocení a lépe pochopitelné, proč je v dalším textu přistupováno k interpretaci, především procesu učení, jinak.

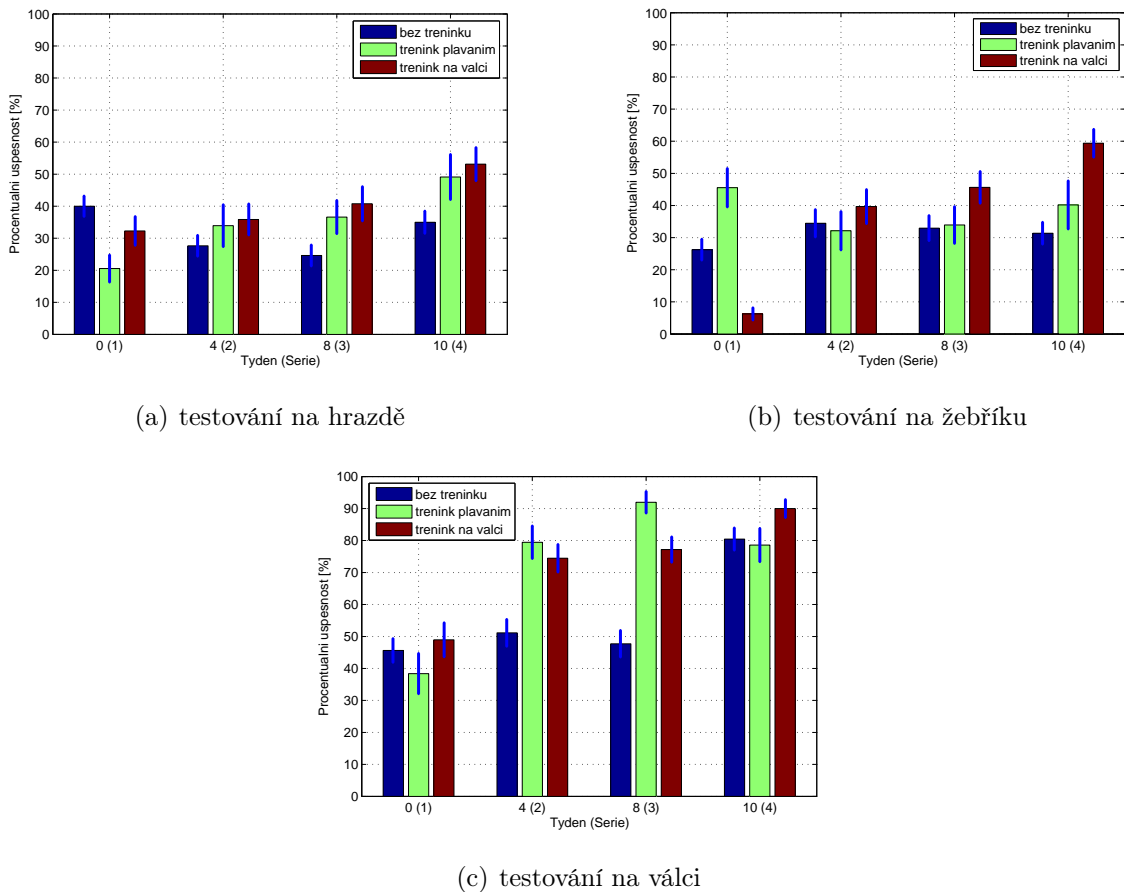
---

<sup>5</sup> $u_p$  je značením standardního procentuálního vyhodnocení série testů, nejedná se o značení kvantilu

### 6.2.1 Standardní vyhodnocení motorického testování

Z podstaty experimentu je nejdříve nutné určit rozdíly a vztahy mezi skupinou netrénovanou a jednotlivými trénovanými skupinami.

Na Obr. 6.1 je pro všechny série vykreslena střední hodnota procentuální úspěšnosti  $u_p$  (v procentech) při motorickém testování na jednotlivých nářadích, tj. na hrazdě, žebříku a na válci, a s ní související chyba průměru pro jednotlivé skupiny rozdělené dle tréninku. Pro potřeby určení průměrné doby pádu z náradí je hodnota výkonu aktivního opuštění náradí nastavena na limitní hodnotu 60 s, což značí úspěšné splnění testu. Popis významu aktivně jednajících jedinců při motorických testech je uveden v kapitole 3, části 1. Motorické testy.



Obr. 6.1: Statistické charakteristiky procentuální úspěšnosti  $u_p$  motorického testování dle typu tréninku.

Vzhledem k metodice experimentu je nejdříve provedeno dělení dle tréninku a vyhodnocena měření v takto rozdělených skupinách. Pro porovnávání výsledků měření motorických testů a ověřování hypotézy  $H_0$  je využit *Mann-Whitneyho U test* (viz vztah 4.5). Je vhodné připomenout, že v případě počtu dat větší než 20 je výpočet statistiky aproximován normálním rozdělením a statistická významnost je určována z tabulkových hodnot pro normální rozdělení [18]. Pro názornost je výpočet  $U$  statistiky demonstrován v příloze C.

Zde jen připomeňme, že pokud jsou soubory naprosto odlišné, hodnota statistiky  $U$  je rovna nule či  $U = N_1 N_2$ , a že pokud jsou soubory naprosto stejné je  $U = \frac{N_1 N_2}{2}$ , kde  $N_1$  je velikost prvního výběru a  $N_2$  je velikost druhého výběru. Hypotéza o shodnosti schopností mezi skupinami byla vyhodnocována na hladině významnosti  $\alpha = 0.02$  pro procentuální úspěšnost a na hladině  $\alpha = 0.05$  pro dobu setrvání na nářadí. Pro další využití označme tuto testovanou hypotézu jako  $H_{0,ANOVA}$ : *Ve schopnostech porovnávaných jedinců nejsou rozdíly.*

Při testování na hrazdě dosahovala v procentuální úspěšnosti před provedenou transplantací výrazně lepších výsledků netrénovaná skupina oproti skupině trénované plaváním. V době setrvání na nářadí se projevují rozdíly kromě série provedené před transplantací také ve 3. a 4. sérii testů. Mezi skupinou netrénovanou a trénovanou na válci se statisticky významné rozdíly při testování na hrazdě projevují také, jak v procentuální úspěšnosti (ve 3. a 4. sérii testů), tak i v době strávené na nářadí (již od 2. série testů), viz Obr. 6.1(a).

Pro první sérii testů, tj. před provedením transplantace, jsou pro testování na žebříku statisticky významné rozdíly v procentuální úspěšnosti testu i v době strávené na nářadí před transplantací mezi všemi třemi skupinami, jak je již patrné z Obr. 6.1(b). Mezi skupinou netrénovanou a trénovanou na válci lze rozdíly nalézt v poslední 4. sérii ( $U(u_p) = 1641.5$ ,  $U(t_L) = 1677$ ), a to jak v procentuální úspěšnosti, tak v době setrvání na nářadí.

Při motorických testech na válci jsou statisticky významné rozdíly v procentuální úspěšnosti mezi všemi třemi skupinami dělenými dle tréninku ve 3. sérii jak v procentuální úspěšnosti, tak v době setrvání na nářadí. Ve 2. sérii jsou rozdíly též pro obě sledované veličiny mezi skupinou netrénovanou a oběma skupinami trénovanými, viz Obr. 6.1(c).

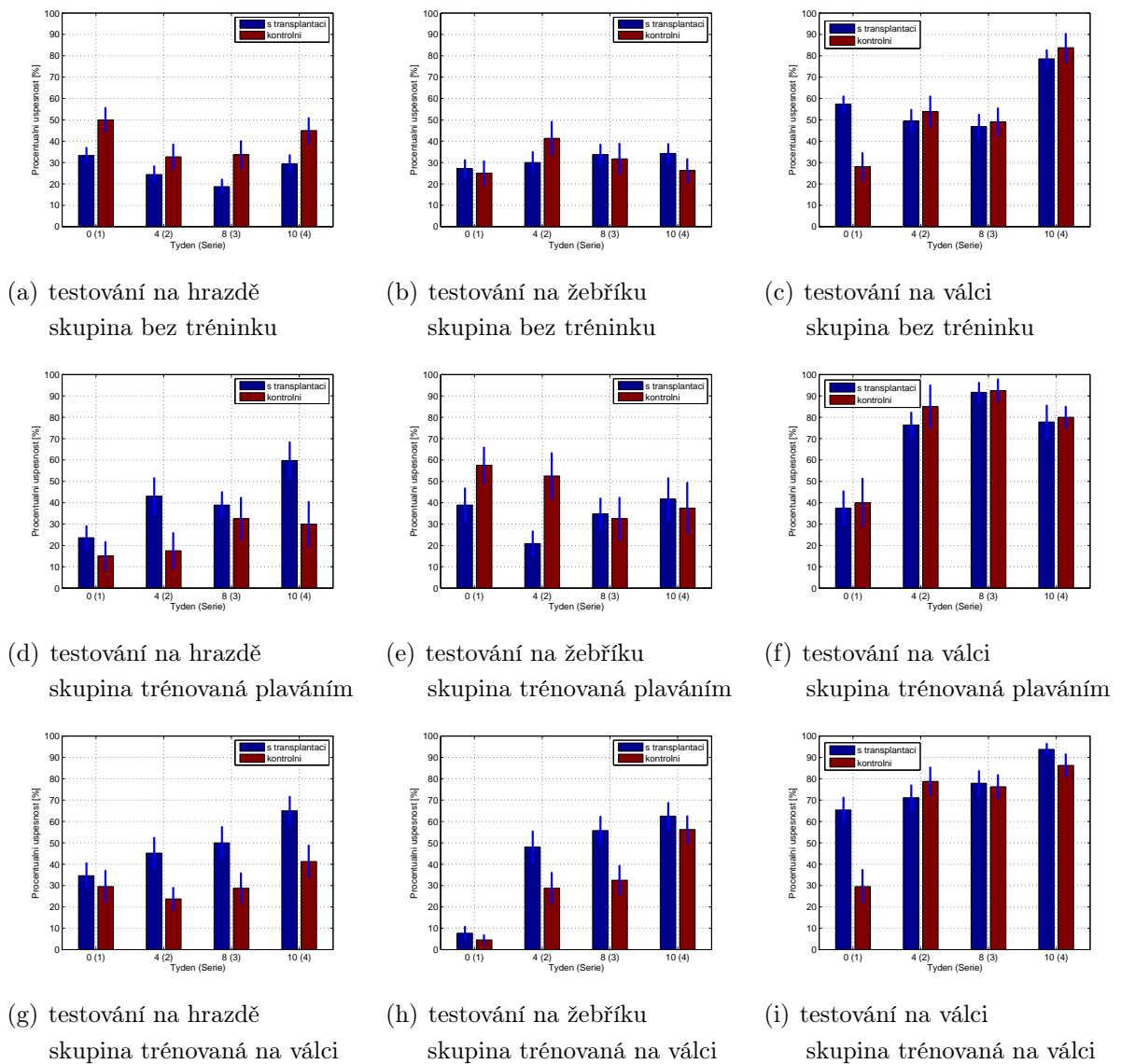
Další dělení je provedeno vzhledem k povaze studie vlivu transplantace a ověřování hypotézy  $H_0$  právě na základě provedení transplantace. Motorické testy jsou tímto hodnoceny v jednotlivých skupinách rozdělených dle prováděného tréninku a opět jsou pomocí *Mann-Whitneyho U testu* vyhodnocovány hypotézy o shodnosti výsledků v porovnávaných skupinách, resp. určovány statisticky významné rozdíly mezi skupinami.

Po provedené transplantaci bylo zlepšení v motorické koordinaci obecně výraznější u trénovaných zvířat (viz Obr. 6.2), avšak netrénované transplantované myši měli po transplantaci takové schopnosti, že v procentuální úspěšnosti nebyl žádný rozdíl mezi skupinou transplantovanou a skupinou kontrolní. V případě doby strávené na nářadí byl rozdíl pouze ve 3. sérii pro testování na hrazdě ( $U(u_p) = 688$ ).

Statisticky významné rozdíly mezi skupinami dělenými dle transplantace se vyskytovali jak pro procentuální úspěšnost, tak pro dobu strávenou na nářadí, před provedením transplantace pro testování na válci ve skupině netrénované i skupině trénované na válci, v dalších 3 sériích již hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  souborů zamítnuta nebyla.

Ve skupině trénované plaváním jediný statisticky významný rozdíl byl pro testování na





Obr. 6.2: Statistické charakteristiky procentuální úspěšnosti motorického testování  $u_p$  v procentech ve skupinách dělených dle typu tréninku a provedení transplantace.

žebříku ve 2. sérii, opět pro procentuální úspěšnost i dobu setrvání na nářadí ( $U(u_p) = 138.5$ ,  $U(t_L) = 144$ ), kdy transplantovaná skupina dosahovala výrazně horších výsledků než skupina kontrolní.

Ve skupině trénované na válci se skupina transplantovaná a kontrolní nejvíce statisticky liší. Kromě již uvedeného rozdílu při testování na válci v 1. sérii (před transplantací) se statisticky významné rozdíly objevují pro oba sledované atributy ve 3. sérii při testování na žebříku a 4. sérii při testování na hrazdě ( $U(u_p) = 277.5$ ,  $U(t_L) = 270.5$ ). Transplantovaní jedinci v porovnání s kontrolní skupinou dosahovali lepších výsledků.

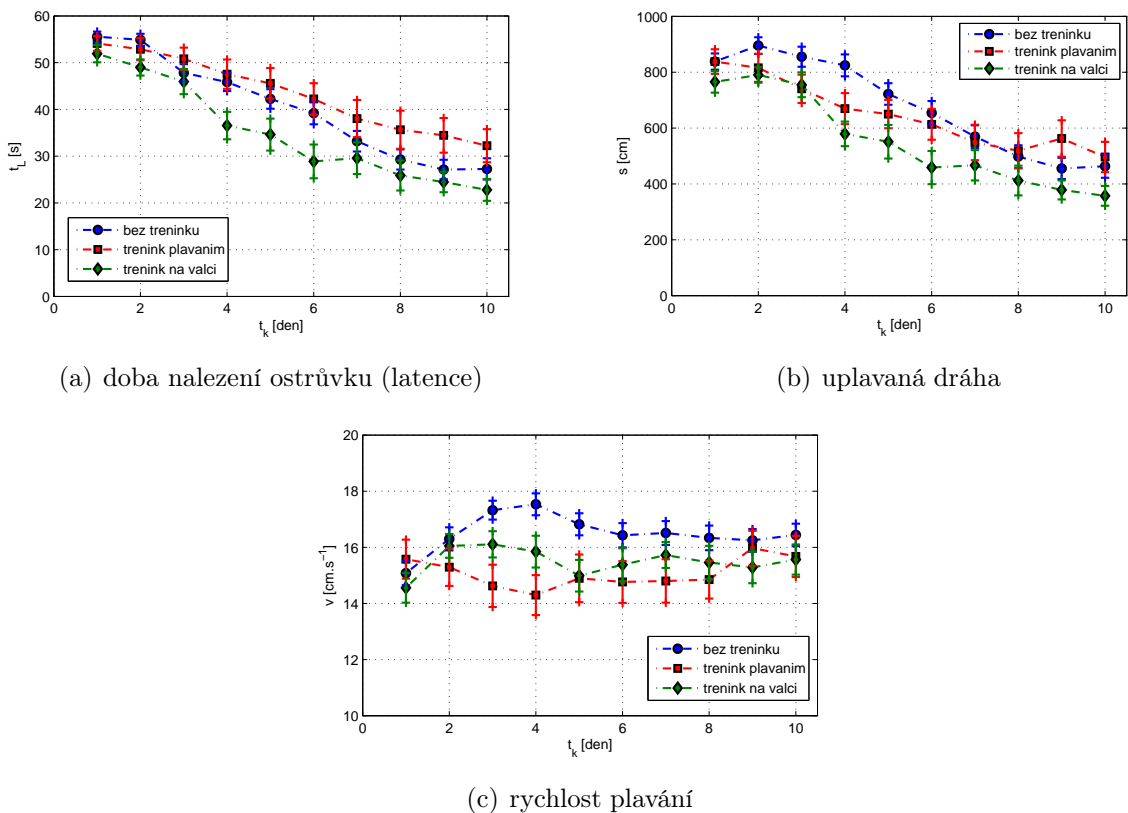
Společně zmíněné výsledky naznačují, že v jednotlivých skupinách rozdělených podle tréninku soubory nebyly vyvážené dle schopností před ovlivněním tréninkem. V obou tréno-

vaných skupinách však došlo k výraznému zlepšení motorických schopností. V případě provedené transplantace, transplantovaná skupina dosahovala daleko horších výsledků než skupina kontrolní pouze ve 2. sérii při testování na žebříku ve skupině trénované plaváním. V ostatních případech dosahovala skupina transplantovaná obdobných či lepších výsledků než skupina kontrolní. Proto lze vyvodit závěr, že při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace, avšak trénink má daleko větší vliv než provedení transplantace, což odpovídá předpokladům odborníků. Pro úplnost dodejme, že celá hypotéza  $H_0$  zní: *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností.*

### 6.2.2 Standardní vyhodnocení kognitivního testování

Nyní následuje vyhodnocení kognitivního testu v Morrisově vodním bludišti pro zvolený demonstrativní příklad, které je znázorněno na Obr. 6.3. Pohyb jednotlivců během testu je zaznamenáván automatickým trasovacím systémem Ethovision společnosti Noldus.

Stejně jako v případě vyhodnocení motorického testování je nejdříve provedeno dělení dle tréninku a vyhodnocena měření v takto rozdělených skupinách.



Obr. 6.3: Statistické charakteristiky dosažení ostrůvku v MWM dle typu tréninku.

Na obrázku 6.3 jsou pro každý časový okamžik  $t_k$  experimentu zobrazeny střední hod-

noty a SEM pro všechny měřené veličiny, tj. dobu nalezení ostrůvku (latenci)  $t_L$  měřenou v sekundách, uplavanou dráhu  $s$  měřenou v centimetrech a rychlost plavání  $v$  v  $cm \cdot s^{-1}$ . Dráha a rychlost často nebývá při standardním vyhodnocení experimentu uváděna.

Na první pohled je patrné snižování doby nalezení ostrůvku ve všech třech trénovaných skupinách, viz Obr. 6.3(a), stejně tak zmenšování uplavané vzdálenosti před nalezením ostrůvku 6.3(b). Rychlost plavání je během celého experimentu téměř konstantní, viz Obr. 6.3(c), avšak především při 3. a 4. testu v MWM se u skupiny trénované plaváním projevuje zpomalení, což odpovídá situaci, že jedinci bývají unavenější.

Pro porovnání výsledků je využita ANOVA (kritické hodnoty Scheffého S testu, obdržené z F-distribuce) pro soubory definované na základě hypotézy vlivu tréninku na kognitivní schopnosti. Uváděná  $F$  je hodnota  $F$ -poměru. Velké hodnoty  $F$ -poměru mají za následek malé hodnoty  $p$ , což znamená zamítnutí testované hypotézy. Pokud nulová hypotéza neplatí, je hodnota  $F$  výrazně větší než 1.

Mezi skupinou netrénovanou a trénovanou plaváním nejsou pro dobu nalezení ostrůvku  $t_L$  během celého experimentu žádné statisticky významné rozdíly. Latence jsou statisticky významně menší, tzn. lepší, v časových okamžicích  $t_k \in \{2, 4, 6\}$ , tzn. ve 2. ( $F = 7.0353$ ,  $p < 0.0099$ ), 4. ( $F = 7.2770$ ,  $p < 0.0087$ ) a 6. dni ( $F = 5.8466$ ,  $p < 0.0182$ ) testování v MWM, pro skupinu trénovanou na válci oproti skupině netrénované. Ve skupině trénované plaváním jsou statisticky významné rozdíly oproti skupině trénované na válci ve 4., 5. a 6. dni, poté v 9. a 10. dni kognitivního testování (jedinci ve skupině trénované na válci dříve nalézají ostrůvek). Hypotézy  $H_{0,ANOVA}$  o shodnosti jednotlivých souborů jsou vyhodnocovány na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$  (na 90% hladině významnosti se rozdíl projeví již ve 3. testu).

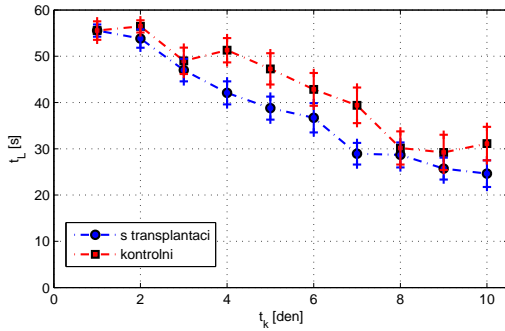
Dráha je statisticky významně kratší ve 2., 4., 5. a 6. dni ve skupině trénované na válci oproti skupině netrénované, ve 4.-6. dni i ve skupině trénované plaváním oproti skupině netrénované. Jedinci trénovaní plaváním jsou při 3., 4. a 5. testu statisticky významně pomalejší než jedinci trénovaní. Skupina trénovaná na válci uplave významně kratší dráhu v posledních dvou dnech testování (9. a 10. den) než skupina trénovaná plaváním.

Rychlost plavání je odlišná pro skupinu netrénovanou a obě trénované. Trénovaní jedinci plavou od 3. dne daleko rychleji (skupina trénovaná plaváním do 7. dne a skupina trénovaná na válci do dne 5.).

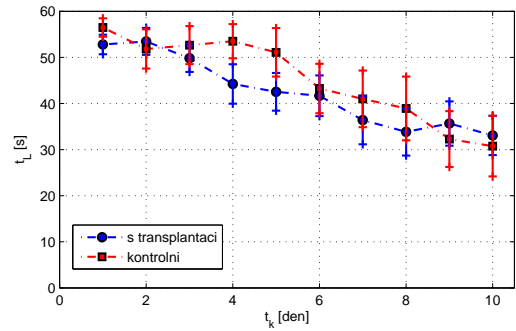
V tomto experimentu je součástí testování měření doby strávená ve středové zóně bludiště v 1. den učení (v  $t_k=1$ ) a pro skupinu trénovanou v plavání i v 1. den tréninku, kdy je též měřena rychlost plavání. Měření je vyhodnocováno údajem poměru doby strávené ve středové zóně bludiště k celkové době strávené v bludišti (v procentech).

Dále je v již datovém souboru rozděleném dle tréninku provedeno podrobnější dělení

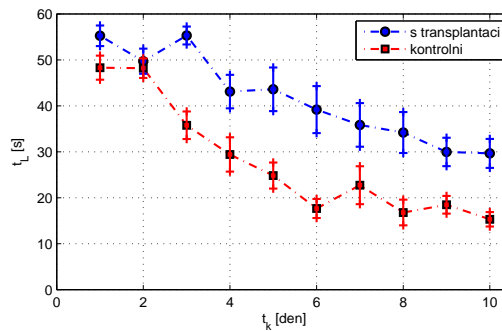
na skupiny na základě provedení transplantace, stejně jako v případě vyhodnocení testování motorického. Měření v jednotlivých skupinách jsou opět vyhodnocována pomocí testu ANOVA, kdy se opět testuje hypotéza  $H_{0,ANOVA}$ , resp. určovány statisticky významné rozdíly mezi skupinami.



(a) doba nalezení ostrůvku (latence)  
skupina bez tréninku



(b) doba nalezení ostrůvku (latence)  
skupina trénovaná plaváním



(c) doba nalezení ostrůvku (latence)  
skupina trénovaná na válci

Obr. 6.4: Statistické charakteristiky dosažení ostrůvku v MWM dle typu tréninku.

Pro vizualizaci porovnání skupiny s provedenou transplantací a skupiny kontrolní jsou použity pouze data latence (viz obr. 6.4). Na  $x$ -ové ose jsou časové okamžiky prováděných testů  $t_k$  ve dnech, na  $y$ -ové zmíněná doba nalezení ostrůvku  $t_L$ . Grafy pro uplavanou dráhu a rychlost plavání v jednotlivých skupinách jsou uvedeny na příloženém CD.

Největší statisticky významné rozdíly se vyskytují ve skupině trénované na válci, a to v latenci (viz Obr. 6.4(c)) a v uplavané dráze. Rychlost plavání je v těchto dvou skupinách po celou dobu experimentu srovnatelná. Hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  byla pro latenci  $t_L$ , resp. pro dráhu  $s$  zamítnuta již od 3. dne experimentu ( $F = 30.7776$ ,  $p < 0.00002$ , resp.  $F = 21.3194$ ,  $p < 0.0001$ ). Kontrolní skupina dosahuje daleko lepších výsledků než skupina s provedenou transplantací.

Ve skupině trénované plaváním jsou statisticky významné rozdíly ohledně transplantace především v rychlosti plavání, a to po celou dobu experimentu. Kontrolní jedinci plavou

daleko rychleji. V poslední netréované skupině jsou statisticky významné rozdíly v den 4., 5. a 7. v latenci a 2., 4.–7. a 10. den kognitivního testování v uplavané dráze.

Stejně jako v případě motorického testování je především z pohledu kognitivního učení běžně vyhodnocované latence  $t_L$  významný trénink, statisticky významné rozdíly v tomto atributu mezi skupinou transplantovanou a kontrolní se vyskytují pouze ve skupině trénované na válci. I když je potřeba podotknout, že ve všech skupinách (netréované i trénovaných) docházelo k učení u skupiny transplantované i kontrolní.

V případě testování v MWM byla v rámci experimentu též registrována doba strávená ve středu bludiště a rychlost plavání první den tréninku pro skupinu trénovanou plaváním a doba strávená ve středu bludiště první den učení pro tuto skupinu a skupinu netréovanou.

Standardně bývá procentuálně vyhodnocena doba strávená ve středové zóně bludiště (vztažena k celkové době strávené v bludišti). Mezi uvedenými skupinami (bez tréninku a trénovanou plaváním) jsou statisticky významné rozdíly v procentuální době strávené ve středu bludiště ( $p < 0.0044$ ). Skupina trénovaná tráví ve středu daleko více času, přesto ostrůvek nalézá ve stejné době jako skupina netréovaná. Průměrná procentuální doba strávená v bludišti v první den učení je pro skupinu netréovanou 30.2526% a pro skupinu trénovanou plaváním 41.0338%. Interpretace tohoto výsledku je čistě na odbornících.

Též lze v tomto případě otestovat hypotézu  $H_{0,ANOVA}$  pro procentuální dobu strávenou ve středu bludiště a rychlost plavání pro skupinu trénovanou plaváním v první den tréninku a první den učení, což ovšem málokdy bývá standardně vyhodnocováno. Výsledky odpovídají předchozím závěrům, kdy procentuální doba strávená ve středu bludiště je první den tréninku výrazně nižší než první den učení ( $p < 0.0091$ , 1. den tréninku je průměrná hodnota 26.5667% a 1. den učení 41.0338%). Mezi rychlostmi plavání mezi uvedenými dny statisticky významný rozdíl není (na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$ ).

### 6.2.3 Standardní vyhodnocení testování open-field

Ačkoliv test open-field bývá řazen mezi testování motorických schopností, jedná se spíše o testování schopností zkoumání prostředí. Dle provedených studií je vztah mezi standardními (výše uvedenými) motorickými testy a open-field kontroverzní [7], proto toto bývá vyhodnocováno samostatně. Navíc jedno měření nám nijak nepřispěje při testování hypotézy  $H_0$ , slouží pouze jako doplňková informace, která musí být hodnocena z pohledu odborníků společně s testy motorickými. Vyhodnocení testu je proto postaveno pouze na závěrech testování hypotézy  $H_{0,ANOVA}$  pro ušlou dráhu v *cm* za 5 *min*.

Testování v open-field probíhalo pro omezenou skupinu jedinců, konkrétně o velikosti 56 jedinců, z toho 24 bez tréninku, 13 trénovaných plavání a 19 trénovaných na válci. Jelikož se jedná o jedno samostatné testování, tzn. neprojevuje se zde žádná dynamika procesu učení,

není nutné výsledky dokumentovat za pomoci grafů. Statistické charakteristiky (průměr  $\pm$  chyba průměru) testování v open-field pro ušlou dráhu  $s$  jsou pro skupinu netrénovanou  $1335.7246 \pm 135.2671$  cm, pro skupinu trénovanou plaváním  $1278.2008 \pm 136.6376$  cm a pro skupinu trénovanou na válci  $1430.9226 \pm 135.6540$  cm. Hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  byla pro dráhu  $s$  přijata, tzn. že při testování v open-field nejsou mezi jednotlivými skupinami dělenými dle tréninku statisticky významné rozdíly v ušlé dráze (na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$ ).

Stejně jako při vyhodnocení předchozích testů je z důvodu provedení transplantace v jednotlivých skupinách ještě testován  $H_{0,ANOVA}$  mezi skupinami dělenými dle tréninku a provedené transplantace. V tomto případě též nejsou statisticky významné rozdíly v ušlé dráze mezi žádnými skupinami.

Hodnoty statistik souvisejících se standardním vyhodnocením jsou pro uvedeny na příloženém CD. Jedná se konkrétně o hodnoty  $U$  statistik pro motorické testování a hodnoty  $F$ -poměru a související  $p$ -levelu pro testování kognitivní. Tučně zvýrazněné hodnoty značí, mezi kterými skupinami byla zamítnuta hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  o shodnosti schopností mezi skupinami. Pro motorické testování lze též na CD najít hodnoty  $U_{max} = N_1 N_2$ , vzhledem k nekompletnímu testování souboru jedinců před provedením transplantace a snížení počtu testovaných jedinců při poslední sérii testů. Jen poznamenejme, že v případě porovnávání skupin A-B hodnota  $U < U_{max}/2$  značí v případě motorického testování dosažení lepších výsledků ve skupině A, hodnota  $U > U_{max}/2$  dosažení lepších výsledků skupinou B.

#### 6.2.4 Závěry standardního vyhodnocení experimentu

Závěrem provedme shrnutí měření a výsledků experimentu. Hypotéza  $H_0$  zní: *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností.* Hlavním ovlivňujícím faktorem tohoto experimentu je však trénink, a ne transplantace, což potvrzuje i předpoklad odborníků a jejich přístupu k tomuto experimentu.

V případě eliminace vlivu faktoru tréninku (dle přístupu odborníků), tzn. vyhodnocením motorických a kognitivních schopností v jednotlivých skupinách dělených dle tréninku, můžeme hypotézu  $H_0$  (na hladině významnosti  $\alpha = 0.02$  pro procentuální úspěšnost a na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$  pro dobu  $t_L$ ) přijmout pro skupinu netrénovanou a trénovanou plaváním. Pro ně na základě motorického testování můžeme přijmout tvrzení, že transplantace embryonální tkáně mozečku má pozitivní vliv na motorickou koordinaci jedinců. V případě těchto dvou skupin obě od počátku kognitivního testování vykazují stejné schopnosti v nalezení ostrůvku. Avšak pro skupinu trénovanou na válci hypotézu  $H_0$  musíme zamítnout. Ačkoliv hypotézu můžeme přijmout na základě provedeného motorického testování, během kognitivního testování vykazuje při hledání ostrůvku skupina transplantovaná výrazně horší schopnosti v nalezení ostrůvku (statisticky významné rozdíly mezi skupinou s provedenou transplantací a kontrolní se projevují již od 3. dne testování v MWM). Mezi ženskými a

mužskými jedinci nebyly, jak při testech motorické koordinace, tak i v Morrisově vodním bludišti, zaznamenány žádné rozdíly.

Je nutné si uvědomit, že hypotéza  $H_0$  jako celek je posuzována a vyhodnocována odborníkem na základě částečných výsledků potvrzování hypotéz  $H_{0,ANOVA}$  a na základě jeho expertních znalostí a zkušeností. Nejspíše i z tohoto důvodu se závěry ohledně epileptické reakce, tj. vlivu citlivosti CNS, běžně neuvádějí.

Učení je však dynamický proces, a proto jsou dále v této práci navrženy nové přístupy k hodnocení procesu učení a ne přímo k vyhodnocování uváděných hypotéz (ačkoliv toto spolu velice úzce souvisí). Ze standardního způsobu vyhodnocení nejsou především u motorických testů zcela zřejmé vzájemné závislosti v dané sérii, jelikož data se průměrují, nejsou zcela zřejmé pravděpodobnosti úspěchu během jednotlivých testů experimentu, rozdělení schopností jedinců v jednotlivých testech, které jsou důležité pro definování chyb či velikost vlivu apriori informace.

## 6.3 Využití nových metod při vyhodnocení

V této části budou demonstrovány metody a přístupy popisované v kapitolách 4 a 5. Nejprve je uveden náhled na daný experiment z pohledu využití nestandardně užívaných metod biologické statistiky. Druhá část demonstruje použití metod pro analýzu experimentu při volbě aproximace normálním rozdělením a poslední totéž, ovšem při volbě aproximace rozdělením jiným, včetně metod volby té nejvhodnější.

### 6.3.1 Nevyužívané metody biologické statistiky

V první části jsou uvedeny metody biologické statistiky, které nejsou běžně zařazeny mezi metody užívané pro interpretaci výsledků motorických a kognitivních testů. Nezávisí přitom na volbě aproximace pro interpretaci výsledků. Budeme-li mluvit o aproximaci, bude nejčastěji myšlena aproximace sledovaného atributu  $\tau$ , resp. latence  $t_L$ , normálním rozdělením, pokud nebude uvedeno jinak.

### **Analýza závislostí výstupů měření a citlivosti na jednotlivé faktory experimentu**

V případě, že je to možné z hlediska naměřených dat, níže dvě popsané metody je vhodné provádět jako první kroky při analýze výstupů experimentů. Jedná se o metody analýzy závislostí jednotlivých výstupů měření daného experimentu a metody pro určení citlivosti na jednotlivé faktory ovlivňující experiment, tj. o korelační analýzu měřených výstupů a využití analýzy rozptylu, ale pro jiné účely než jsou standardně používány.

#### *Korelační analýza podobnosti výstupů experimentu*

První významný pohled na experiment poskytne korelační analýza. V případě uváděného experimentu jsou použity mnohé metody testování nervových funkcí myší, s několika různými výstupy. Před samotným zpracováním výsledků měření je vhodné určit, jak spjaté jsou výsledky, tj. zda je nutné se zabývat všemi uvedenými výstupy experimentu, z nichž některé jsou standardním výstupem používaného softwaru Ethovision. Je pochopitelné, že záleží na hypotézách daného experimentu, na co konkrétně je experiment zaměřen či zda jde o komplexní vyhodnocení daného myšího biologického modelu.

Nejdříve je vhodné definovat, na jaké vzájemné vztahy je možné se zaměřit.

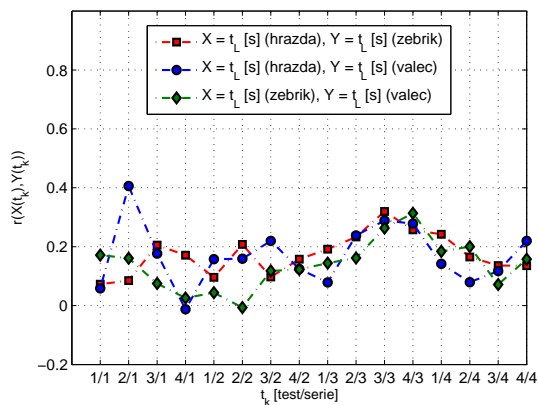
U motorických testů, které byly prováděny jako první, se lze zaměřit na vztah mezi jednotlivými testy experimentu na daném nářadí, poté na vztah mezi jednotlivými nářadími při jednotlivých testech (sériích). Korelační analýza by nám v tomto případě mohla poskytnout informaci o tom, kdy již není nutno provádět další testování, tj. kolik testů je nutno



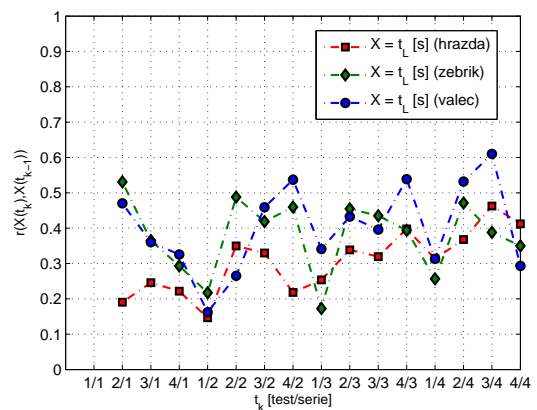
provádět pro dostatečný popis procesu učení. Z tohoto důvodu je výhodnější použít komplexní informace ze všech provedených testů, tj. využít všechna provedená měření a neprovádět průměrování přes série. Využijí se tedy plně informace z měření získaných při motorickém testování v časových okamžicích  $t_k \in \{1/x, 2/x, 3/x, 4/x\}$ , kde  $x$  značí pořadové číslo provedené série, hodnoty  $1 \div 4$  odpovídají metodice experimentu pro 4 měření v každé sérii. Pro tento experiment platí, že  $x \in \{1, 2, 3, 4\}$ , kde  $x = 1$  odpovídá sérii testů provedených před transplantací.

Zde je nutné uvést, že z pohledu korelační analýzy budou zkoumány jednotlivé události  $[y_{k,n}, t_k]$ . Jen připomeňme, že  $y_k = [u_k, \tau_k]$  a  $t_k$  odpovídá výše uvedenému. Konkrétně bude zkoumán atribut  $\tau$  (latence) mající charakter náhodné veličiny, resp.  $\tau_{k,n}$ , kde  $n$  odpovídá velikosti celkového datového souboru. Nemá smysl provádět korelační analýzu pro atribut  $u$  (úspěch), neboť je v každém časovém okamžiku  $t_k$  definován pravděpodobností  $p_{02}$ , viz kapitola 2.1.

Mějme dvě náhodné veličiny  $X(t_k)$  a  $Y(t_k)$ , obě realizované  $\tau$ . Je provedena dvojí korelační analýza – jedna pro náhodné veličiny  $X(t_k)$  a  $Y(t_k)$  odpovídající korelaci schopností jedinců na jednotlivých nářadích v čase  $t_k$  (viz Obr. 6.5(a)) a jedna pro náhodnou veličinu  $X(t_k)$ , kdy je hodnocena korelace veličiny, tj. schopností jedinců na jednom nářadí, mezi časovým okamžikem  $t_k$  a  $t_{k-1}$  (viz Obr. 6.5(b)).



(a) na různých nářadích  
pro každý test experimentu



(b) na stejném nářadí  
pro daný test s testem předchozím

Obr. 6.5: Korelace dob strávených na nářadí

Dle výsledků na Obr. 6.5(a) znázorňujícím hodnotu Pearsonova výběrového korelačního koeficientu  $r(X(t_k), Y(t_k))$  dob strávených na různých nářadích během daného testu  $t_k$  je možno říci, že závislost motorických schopností na daných nářadích je relativně malá. Pro vizualizaci jsou záměrně odděleny hodnoty korelačního koeficientu  $r(X(t_k), Y(t_k))$  před transplantací, stejně tak i na Obr. 6.5(b) pro  $r(X(t_k), X(t_{k-1}))$ .

Hodnota  $r(X(t_k), X(t_{k-1}))$  pro  $t_k = 2/1$  odpovídá hodnotě Pearsonova korelačního ko-

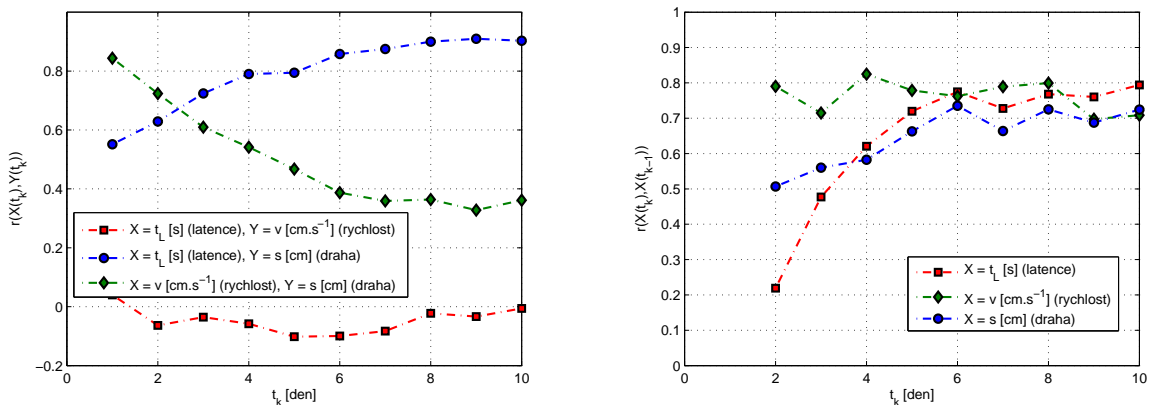
eficientu  $r$  výstupů mezi 1. a 2. testem v 1. sérii. Je patrné, že nejmenší závislost mezi jednotlivými dny je vždy mezi posledním testem série  $(4/x)$  a prvním testem série následující  $(1/x + 1)$ , tj. v grafu hodnoty  $t_k = \{1/2, 1/3, 1/4\}$ . Tento výsledek je pochopitelný z důvodu časové prodlevy mezi jednotlivými sériemi.

Pro jednotlivá měření na nářadích ve stejný časový okamžik se nedá vzájemný vztah přesně definovat, jednou je během testu závislost rostoucí, jindy oscilující či klesající (viz Obr. 6.5(a)). Samotné hodnoty korelačního koeficientu  $r(X(t_k), X(t_{k-1}))$  nám nedávají dostatečné informace o procesu učení při jednotlivých motorických testech. Při učení by se měla hodnota korelačního koeficientu s rostoucím časem experimentu zvyšovat, tj. mělo by platit  $r(X(t_k), X(t_{k+1})) > r(X(t_{k-1}), X(t_k))$ . Trend může být dán samotnými motorickými schopnostmi před provedením transplantace (apriori informace). Modifikací dat dle této apriori informace bychom mohli dosáhnout jiného výsledku.

Z výše uvedeného vyplývá, že je třeba každý motorický test hodnotit samostatně po celou dobu motorického testování.

U kognitivního testování v MWM je vhodné zaměřit se kromě korelací mezi jednotlivými testy na vztah mezi výstupy latence  $\tau_{k,n}$ , rychlostí  $v_{k,n}$  a uplavané dráhy  $s_{k,n}$ . Všechny tyto výstupy mají charakter náhodné veličiny a pro snadnější reprezentaci jsou opět na Obr. 6.6(b) označeny jako  $X(t_k)$ , resp.  $Y(t_k)$ .

Hodnota korelačního koeficientu  $r(X(t_k), X(t_{k-1}))$  v 2. dni kognitivního testu  $t_2$  na Obr. 6.6(b) odpovídá korelaci výstupů mezi 1. a 2. dnem testu.



(a) výstupů z kognitivního testování v MWM

(b) dob nalezení ostrůvku v MWM pro daný test s testem předchozím

Obr. 6.6: Korelace výstupů kognitivního testování v Morrisově vodním bludišti

Korelační analýza výstupů v čase  $t_k$ , tj. hodnoty  $r(X(t_k), Y(t_k))$ , odpovídá předpokladu vycházejícího ze vztahu  $s = v \cdot t$ . Výsledek tuto závislost prokázal (viz Obr. 6.6(a)). Z uvedeného grafu je vidět, že učící proces je v případě kognitivních testů daleko zřejmější než

u testů motorických, především pro výstup latence  $t_L$ .

Dle provedené korelační analýzy kognitivního testování se latence jako výstup ukázala v případě testu v MWM pro vyhodnocení učení nejvhodnější a k popisu procesu učení plně dostačující. Hodnota korelačního koeficientu  $r(X(t_k), X(t_{k-1}))$  ustálila po  $X(t_k) = 6$  pro všechny pozorované výstupy (latence, dráha, rychlost) na hodnotě v rozmezí 0.7 – 0.8. Dalo by se usuzovat, že k vyhodnocení kognitivního testu by mělo být dostačující provedení 6-ti testů. Jako doplňující je vhodná informace o rychlosti plavání.

Zajímavé je též určení vzájemných vztahů mezi motorickými a kognitivními testy, a také i jejich vztah k testu open-field. Vzhledem k nejednotnosti doby trvání jednotlivých testů, jsou tato data neporovnatelná. Je tedy problém, jaká data pro základní porovnání volit. Jednou z možností je porovnávat data z experimentu, kdy jedinci dosáhnou maxima svých schopností, další možností je určit vzájemný vztah z posledních pokusů experimentu. Problémem by však mohla být správná interpretace výsledků. Proto tato analýza nebyla provedena a je námětem na další práci.

Shrneme-li provedenou korelační analýzu, její výstupy odpovídají standardnímu přístupu k vyhodnocování takového typu experimentu, tj. motorické testy jsou vyhodnocovány zvlášť, kognitivní test je vyhodnocován dle měření latence a MWM se testuje minimálně 5 dní. Pokud by vyhodnocovaný experiment obsahoval skryté rozdíly, korelační analýza by je odhalila. Metodika experimentu by mohla být tedy ještě v průběhu testování modifikována. Stejně tak může omezit i výstupy pro následné vyhodnocení a určit z nich postačující.

### ***Analýza citlivosti na jednotlivé faktory experimentu***

Po provedení korelační analýzy a možném omezení vyhodnocovaných výstupů experimentu lze využít další metodu komplexního vyhodnocení. Tím je myšleno určení vlivu faktorů experimentu (především fyziologických) za využití analýzy rozptylu (ANOVA, resp. MANOVA). Tuto metodu lze využít ještě před samotným vyhodnocením dat pro zhodnocení citlivosti měření na jednotlivé faktory experimentu, tj. jestli má každý faktor statisticky významný vliv a jak velký. Vybraná analýza je záměrně uvedena hned po analýze korelační, aby bylo možné se při analýzách následujících zaměřit na nejdůležitější faktory experimentu, resp. vzít je v úvahu při testování hypotéz – v případě tohoto demonstrativního experimentu vliv transplantace, či-li testování hypotézy  $H_0$ : *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností.*

Za ovlivňující faktory jsou v tomto experimentu uvažovány typ tréninku, provedení transplantace a její úspěšnost, pohlaví jedince a epileptická reakce (výsledky epileptického testu jsou zde brány též jako faktor).

Z pohledu statistiky je pro motorické testování vhodnější provádět vícerozměrnou analýzu

rozptylu (MANOVU), která vyšetřuje vliv faktorů na několik sledovaných veličin, mezi kterými mohou být obecně nějaké souvislosti. Dle výsledků korelační analýzy uvažujeme 3 sledované veličiny –  $t_L$  na hrazdě, na žebříku a na válci. Při testování hypotézy  $H_{0,ANOVA}$ : *Ve schopnostech porovnávaných jedinců nejsou rozdíly* dle vybraných faktorů pro  $\tau_{k,n}$  zjistíme níže uvedené:

Faktor	$p_{1/1}(t_L)$	$p_{2/1}(t_L)$	$p_{3/1}(t_L)$	$p_{4/1}(t_L)$
provedení transplantace	0.4830	0.9903	0.5183	0.4542
úspěšnost transplantace	0.6411	0.7051	0.2975	0.4171
pohlaví	0.3818	0.6681	0.0568	0.7929
trénink	0.1446	0.1827	0.5252	0.7921
epilepsie	<b>0.0363</b>	0.6649	0.8747	0.7634
	$p_{1/2}(t_L)$	$p_{2/2}(t_L)$	$p_{3/2}(t_L)$	$p_{4/2}(t_L)$
provedení transplantace	<b>0.0187</b>	0.3255	0.1088	0.3926
úspěšnost transplantace	0.1800	0.2158	0.0253	0.1313
pohlaví	0.9729	0.6409	0.1146	0.5631
trénink	0.2365	<b>0.0461</b>	<b>0.0248</b>	<b>0.0201</b>
epilepsie	0.7301	0.3610	0.7696	0.3884
	$p_{1/3}(t_L)$	$p_{2/3}(t_L)$	$p_{3/3}(t_L)$	$p_{4/3}(t_L)$
provedení transplantace	0.4023	0.8658	0.1456	0.6131
úspěšnost transplantace	0.7179	0.6381	0.2303	0.3834
pohlaví	0.8451	0.7055	0.4122	0.1214
trénink	<b>0.0300</b>	<b>0.0080</b>	<b>0.0022</b>	<b>0.0104</b>
epilepsie	0.2289	0.4421	0.6104	0.2910
	$p_{1/4}(t_L)$	$p_{2/4}(t_L)$	$p_{3/4}(t_L)$	$p_{4/4}(t_L)$
provedení transplantace	0.9291	0.2652	0.5075	0.4805
úspěšnost transplantace	0.5902	<b>0.0288</b>	0.2719	0.0467
pohlaví	0.9517	0.0606	0.9680	0.2300
trénink	<b>0.0002</b>	0.1045	0.3221	0.4050
epilepsie	0.6766	0.2963	0.2433	0.7315

Tab. 6.1: MANOVA pro  $t_L$  (dobu strávenou) na nářadí během motorického testování při jednotlivých testech

V Tab.6.1 jsou uvedeny výsledky MANOVY, kde je testována hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  pro motorické schopnosti v celém datovém souboru.  $p$  hodnota určuje, na jaké hladině významnosti je možné přijmout hypotézu, že skupiny dělené dle uvedeného faktoru jsou rovnocenné. Index u  $p$ -levelu opět značí časový okamžik  $t_k$ , tj. test/série. V prvním sloupci je tedy 1. test v sérii a v řádkách jsou jednotlivé série.

Na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$  je hypotéza zamítnuta (v tabulce zvýrazněno tučně) ve všech časech  $t_k$  po dobu trvání motorického testování během tréninku po provedení operace. Pokud vyjdeme z hodnot  $p$ -levelu během experimentu po provedené operaci (viz hodnoty v Tab.6.1), je průměrná hodnota  $p$  pro faktor trénink rovna  $\bar{p} = 0.1008$ , během tréninku však  $\bar{p} = 0.0473$ . Za v pořadí druhý „nejsilnější“ faktor, je možno považovat pohlaví ( $\bar{p} = 0.2038$ ),

dále pak provedení transplantace ( $\bar{p} = 0.2883$ ), epilepsie ( $\bar{p} = 0.4808$ ) a poté úspěšnost transplantace ( $\bar{p} = 0.5488$ ). Dalo by se říci, že kromě tréninku, je vliv ostatních faktorů srovnatelný.

Vzhledem k tomu, že vyhodnocování motorických testů z pohledu lékařů probíhá samostatně a že korelace mezi výstupy nejsou velké, viz Obr. 6.5(a), je možné v případě vyhodnocení využít výsledky vlivu jednotlivých faktorů experimentu i za pomoci ANOVY pro každé testování na nářadí provedenou zvlášť. I touto metodou zjistíme, že pro všechny motorické testy je nejvýznamnějším faktorem trénink (v pořadí nejvíce ovlivňuje testování na hrazdě, pak na válci, nejméně testování na žebříku).

Pro kognitivní testování vzhledem k výsledkům korelační analýzy je na základě ANOVY (pro dobu nalezení ostrůvku) vyhodnocen jako nejvíce ovlivňující a jediný statisticky významný faktor trénink ( $\bar{p} = 0.0350$ ). Avšak hypotéza  $H_{0,ANOVA}$  byla zamítnuta jen pro  $t_k \in \{4, 5, 6\}$ . Pro kognitivní schopnosti druhým o něco méně silným faktorem je narušení od motorických testů epileptická reakce ( $\bar{p} = 0.0538$ ) a úspěšnost transplantace ( $\bar{p} = 0.0564$ ).

U open-field testu je nejvýznamnějším faktorem úspěšnost transplantace a epileptická reakce, přesto  $H_{0,ANOVA}$  zamítnuta nebyla. U jednotlivců, u kterých probíhá trénování v bludišti, bývá ještě hodnocena doba strávená ve středu bludiště během prvního dne tréninku a během prvního dne kognitivního testu. V obou těchto případech statisticky významným faktorem byla provedená transplantace ( $\bar{p} = 0.0347$  a  $\bar{p} = 0.0436$ ). Pro dobu strávenou ve středu bludiště během prvního dne tréninku (11. den po operaci) také významným faktorem úspěšnost transplantace.

Kompletní výsledky analýzy jsou uvedeny na příloženém CD.

Uvedená analýza citlivosti na faktory má sloužit k tomu, aby interpretace výsledků byla co nejpřesnější a aby se odborník nedopustil zbytečných chyb při vyhodnocování. Pokud bude analýzou určen faktor se statisticky výrazným vlivem na výsledky měření, je vždy nutné toto brát při vyhodnocování experimentu v úvahu. Konkrétně pro ukázkový experiment z analýzy vyplývá, že trénink má při tomto experimentu výrazný vliv (především u motorického testování) a musíme před hodnocením ostatních faktorů brát v úvahu dělení dle tréninku. Analýza tímto potvrdila zkušenosti a předpoklady expertů (odborníků), že hlavním ovlivňujícím faktorem tohoto experimentu je trénink, a ne transplantace. Zda je nutno provádět klasifikaci dle faktorů, pro něž při analýze rozptylu nebyla zamítnuta hypotéza  $H_{0,ANOVA}$ , lze určit dle přístupů zmíněných v kapitole 5.

### Interpretace výsledků pro nevyvážená data

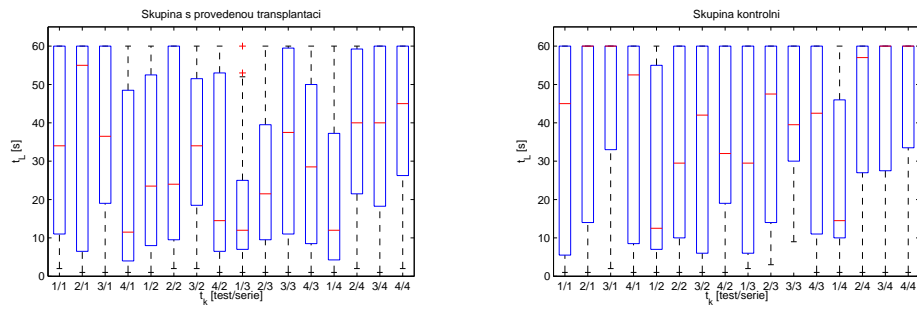
V další části je uvedena interpretace výsledků při využití metod s ohledem na nevyváženost dat (odlišná oproti interpretaci za využití standardních metod). Metody jsou ilustrovány na souboru naměřených dat z motorických testů na nářadí a vzhledem k vývoji korelačního koeficientu  $r(X(t_k), X(t_k))$  uvedeném na Obr. 6(b) na latenci v MWM (tj. ne dráze a rychlosti) ve skupinách rozdělených dle tréninku a s provedenou transplantací.

Výsledky testů (především motorických) napovídají velké nevyváženosti dat, proto se pro interpretaci výsledků měření jako lepší jeví kvantilové informace. Pro popis motorických testů je obecně využíváno percentilového pořadí. Tímto je vhodné pro interpretaci výsledků motorické koordinace i kognitivních schopností využít metody méně citlivé na odchylky od normality, tj. boxploty pro jednotlivé testy, než standardní metody vyhodnocení procentuální úspěšnosti série testů  $u_p \in \{0, 0.25, 0.5, 1\}$  či  $\mu \pm \text{SEM}$  v případě testování v MWM, demonstrováné pro motorické testování na hrazdě na Obr. 6.7.

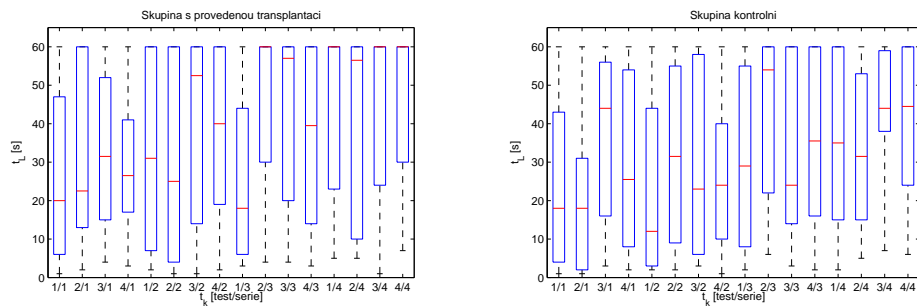
Na Obr. 6.7 je zobrazeno vyhodnocení procesu učení na hrazdě v jednotlivých skupinách dělených dle tréninku a dle provedení transplantace pomocí uváděných metod. Pro každou skupinu jsou vždy pro jednotlivé časové okamžiky  $t_k$  [test/série] zobrazeny hodnoty mediánu, dále 25% a 75% kvantil (hranice zobrazovaného obdélníku), interval hodnot, které nevybočují (rozsah neodlehlych hodnot), odlehle hodnoty (hodnoty, které leží v intervalu  $\langle x_{0.25} - 1.5q; x_{0.25} - 3q \rangle$  nebo  $\langle x_{0.75} + 1.5q; x_{0.75} + 3q \rangle$ , kde  $q$  značí mezikvartilové rozpětí, tj.  $q = (x_{0.75} - x_{0.25})$  a extrémní hodnoty, které jsou menší než  $x_{0.25} - 3q$  či leží za hodnotou  $x_{0.75} + 3q$ . Z těchto údajů je možné posoudit symetrii a variabilitu datového souboru.

V případě ilustrativního příkladu vyhodnocení testování na hrazdě v netrénované skupině lze z boxplotů vyčíst různé zešikmení dat, např. ve skupině s provedenou transplantací jsou v posledním testu první série, tj. v  $t_k = 4/1$  výrazně zešikmena k nižším hodnotám (umístění horizontální čáry mediánu v obdélníku kvartilů), což v takovémto případě značí velký rozdíl mezi střední hodnotou a právě mediánem (pro  $t_k = 4/1$  je hodnota mediánu  $x_{0.5} = 11.5000$  a střední hodnota  $\mu = 24.0417$ ). Pro test v čase  $t_k = 1/3$  je patrné, že se v datech objevují i odlehle hodnoty. Díky tvaru boxplotu a zde zmíněnému lze vyvozovat, že takovýto datový soubor pravděpodobně nereprezentuje data z normálního rozdělení (kde  $x_{0.5} \approx \mu$ ).

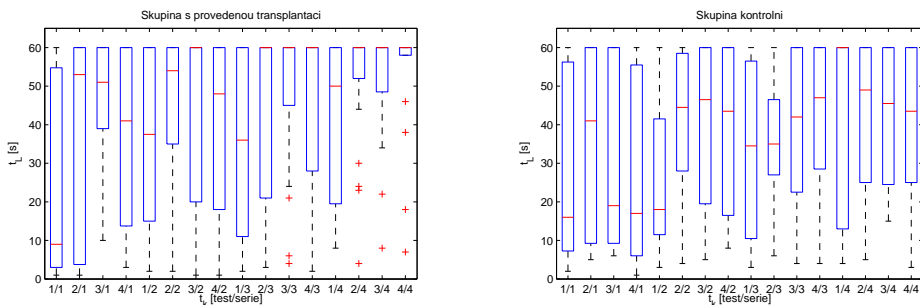
Analýzou jednotlivých boxplotů lze vyvodit, že pro testování na hrazdě je proces učení, definovaný především posunem hodnoty mediánu, na základě vlivu provedené transplantace nejvýraznější ve skupinách trénovaných s provedenou transplantací. Před provedením transplantace jsou zřetelné rozdíly mezi skupinou transplantovanou a skupinou kontrolní především pro skupinu trénovanou na válci, poté ve skupině netrénované, a to hlavně v čase  $t_k = 3/1$  a  $t_k = 4/1$ . Tato dvě měření lze považovat za hlavní příčinu, proč je možné standardním způsobem hodnocení zamítnout hypotézu o shodě schopností jedinců ve skupinách v 1. sérii testování. Dále je zřejmé, že se skupina trénovaná na válci s provedenou trans-



(a) testování na hrazdě ve skupině bez tréninku  
skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)



(b) testování na hrazdě ve skupině trénované plaváním  
skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)



(c) testování na hrazdě ve skupině trénované na válci  
skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)

Obr. 6.7: Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrém, odlehlé hodnoty pro dobu strávenou na hrazdě  $t_L$

plantací celkově nejlépe učí. Ačkoliv se zde vyskytuje několik odlehlých hodnot, velikost mezikvartilového rozpětí se v průběhu experimentu značně zmenšuje.

Následným krokem vyhodnocení experimentu je ověřování hypotézy o shodnosti schopností  $H_{0,ANOVA}$  obdobně jako v případě standardního vyhodnocení, tentokrát však pro každý test samostatně. Vzhledem ke standardnímu způsobu hodnocení a výše uvedenému je v případě motorického testování pro ověřování platnosti hypotézy na základě měření  $t_L$  v každém

časovém okamžiku využít Mann-Whitneyho  $U$  test na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$ .

Z hodnot určených  $U$  statistik vyplývá, že ve skupině bez tréninku se při testování na hrazdě statisticky významně liší měření v čase  $t_k = 3/1$  a  $t_k = 2/3$  (v čase  $t_k = 4/1$  je hodnota  $U$  těsně pod hranicí zamítnutí hypotézy). Obecně lepších výsledků při testu již od doby před provedením transplantace (konkrétně od  $t_k = 2/1$ ) dosahuje skupina kontrolní (hodnoty statistiky  $U$  jsou větší než  $U_{max}/2$ ; hodnoty  $U_{max}$  pro  $t_k = x/1$  jsou rovny  $U_1$  standardního vyhodnocení, pro ostatní série obdobně). Ve skupině trénované plaváním při testování na hrazdě statisticky významné rozdíly nebyly, avšak skupina transplantovaná dosahovala během experimentu lepších výsledků než skupina kontrolní ( $U < U_{max}/2$ ). Ve skupině trénované na válci se statisticky významné rozdíly mezi skupinou transplantovanou a kontrolní projevují v posledních 3 testech (poslední sérii). Před provedenou transplantací vykazuje lepší výsledky skupina s provedenou transplantací, poté skupina kontrolní. V poslední sérii jsou však výsledky testování velice ovlivněny odlehlými hodnotami (viz Obr. 6.7(c)). A v tomto případě je zřejmá výhoda interpretace procesu učení a vyhodnocení experimentu za využití boxplotů.

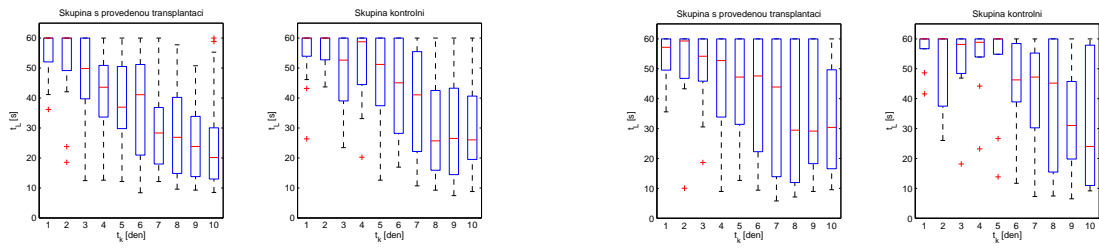
Stejným způsobem je možné provést vyhodnocení testu kognitivního, viz Obr. 6.8. Dle závěrů korelační analýzy výstupů experimentu je hodnocení provedeno pouze pro výstup doba nalezení ostrůvku (latence).

Při kognitivním testování v MWM lze stejně jako v případě motorických testů hodnotit proces učení na základě kvantilových hodnot. Ve skupině bez tréninku a trénované plaváním se dílčí skupina s provedenou transplantací učí rychleji než skupina kontrolní. V případě skupiny trénované na válci je tomu naopak. Mezikvartilové rozpětí je v této skupině výrazně menší, v některých testech se v datech nalézají odlehlé hodnoty a velikost mezikvartilového rozpětí se v průběhu experimentu postupně zmenšuje stejně jako ve skupinách bez tréninku. Z tohoto vyplývá, že jedinci se v dané skupině se s postupem času vyrovnávají a více si odpovídají. Zešikmení dat v případě kognitivního testování není tak výrazné jako u testování motorického, tudíž lze vyvozovat, že datový soubor lépe reprezentuje data z normálního rozdělení než v případě testování motoriky.

Pro porovnání výsledků kognitivního testování, tj. ověřování hypotézy o shodnosti schopností  $H_{0,ANOVA}$ , je využita stejně jako v případě standardního vyhodnocení ANOVA. Tzn. závěry zcela odpovídají vyhodnocení standardnímu, neboť v případě kognitivního testování je hodnocen každý provedený test samostatně a není nutné je v práci znovu uvádět.

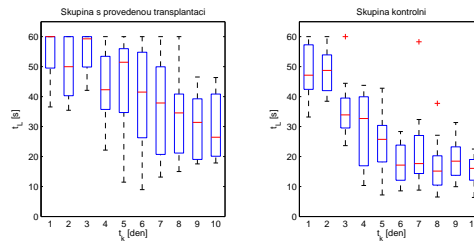
Závěry uváděného způsobu vyhodnocení odpovídají závěrům hodnocení standardního, avšak tato metoda vyhodnocení poskytuje více informací o chování porovnávaných skupin během celého experimentu. Celkové výsledky této analýzy motorického i kognitivního testování, včetně vyhodnocení testování open-field, testování měření doby strávené ve středové





(a) testování v MWM ve skupině bez tréninku skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)

(b) testování v MWM ve skupině trénované plaváním skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)



(c) testování v MWM ve skupině trénované na válci skupina s provedenou transplantací (vlevo) x skupina kontrolní (vpravo)

Obr. 6.8: Boxplot – medián, 25% a 75% kvantil, možné extrémny, odlehlé hodnoty pro dobu nalezení ostrůvku v MWM  $t_L$

zóně bludiště v 1. den učení a pro skupinu trénovanou v plavání i v 1. den tréninku, je uvedeno na CD.

### 6.3.2 Nové metody pro analýzu experimentu při volbě aproximace normálním rozdělením

Tato podkapitola je zaměřena na inovativní přístupy k měření a vyhodnocování provedeného experimentu. Jak je definováno v kapitole 2.1, lze každou událost popsat uspořádanou dvojicí  $[y_k, t_k]$ , kde  $y_k = [u_k, \tau_k]$ ,  $u$  značí atribut úspěšnost a  $\tau$  vyjadřuje dobu vstupu do příslušného stavu. Z pohledu analýz je vyhodnocována informace o celé vybrané skupině, tj. informace o úspěchu skupiny v daném testu, tj.  $p_{01} = P[X < 60]$  pro kognitivní testování a  $p_{02} = 1 - P[X < 60]$  pro testování motorické. Časové rozložení opuštění počátečního stavu všech jedinců ve skupině, tj. distribuční funkce  $F_X(t_L)$ , je v analýzách v této části aproximována normálním rozdělením.

Metody a přístupy jsou v následujícím textu demonstrovány především na souboru naměřených dat pro skupinu trénovanou na válci. Jako ilustrativní metoda testování je pro motorické učení využít právě zmíněný válec. Uvedená skupina byla vybrána především z toho důvodu, že mezi počtem jedinců ve skupině transplantované a kontrolní je nejmenší rozdíl

(26 a 20 jedinců) a z důvodu variability výsledků měření, resp. výskytu odlehlých hodnot. Výsledky souvisejících analýz testování prováděných na ostatních nářadích a ostatní skupiny dělené dle způsobu tréninku jsou uvedeny na příloženém CD.

V případě testování open-field a měření doby strávené ve středu bludiště při kognitivním testování není možné definovat událost procesu učení dle definice v kapitole 2.1. Je k dispozici pouze jedno, resp. dvě měření, a pro tyto testovací metody nemá význam dále uvedené analýzy procesu učení provádět.

### **Analýza experimentu dle atributu úspěšnost $u$**

Na začátek je potřeba zmínit, že interpretace výsledků měření je prováděna pro jednotlivé testy experimentu (jednotlivé časové okamžiky  $t_k$ ), ne pro konkrétní série testů, jak je tomu při standardním vyhodnocení. K potvrzení či vyvrácení hypotézy  $H_0$ : *Při transplantaci embryonální tkáň mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností* je využito informace o  $P[X < 60]$  pro latenci při testování kognitivním a informace  $1 - P[X < 60]$  pro testování motorické.

Konkrétně se jedná o využití informace o pravděpodobnosti úspěchu, tj. pravděpodobnosti setrvání na nářadí do daného časového limitu (pro motoriku)  $p_{02}$  nebo pravděpodobnosti dosažení ostrůvku pod danou časovou hranici  $p_{01}$ , viz vztah (2.1). Totéž platí i pro dobu strávenou ve středu bludiště při testování v MWM. V případě testování open-field by se mohlo jednat o pravděpodobnostní rozložení dosažení určité dráhy, avšak tato metoda testování nemá metodicky danou hodnotu  $s_{lim}$ .

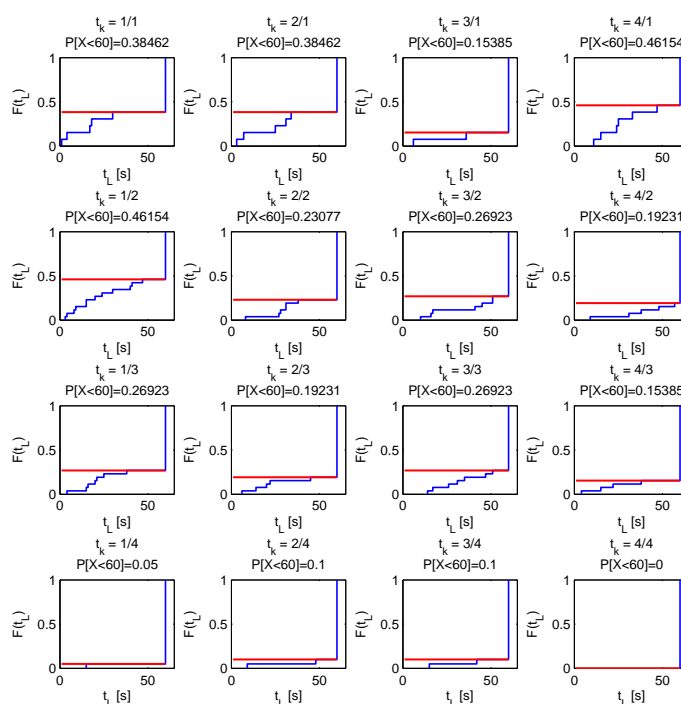
Hodnoty porovnávaných pravděpodobností vychází z hodnot atributu úspěšnost  $u$  pro vyhodnocované skupiny jedinců, které jsou závislé na metodice testování. Je vhodné připomenout, že kromě setrvání na nářadí po metodicky daný čas nabývá úspěšnost hodnoty  $u = 2$  také při aktivním seskoku z nářadí. Obdobně při analýze kognitivních testů je nutné brát ohled na záznamenávání údajů pomocí systému Ethovision, kde  $u = 1$  nabývá již po dosažení 59 s (tolerance pro vyndání myši z MWM na ostrůvek). Atribut úspěšnost  $u$  je nezávislý na použitém rozdělení. Aproximace vybraným rozdělením, v tomto případě normálním, je platná pro atribut  $\tau$ .

Platnost hypotézy  $H_0$  je poté v případě vyhodnocována pomocí vzdáleností hodnot  $p_{01}/p_{02}$  mezi porovnávanými skupinami (transplantovanou a kontrolní) v jednotlivých časových okamžicích  $t_k$ .

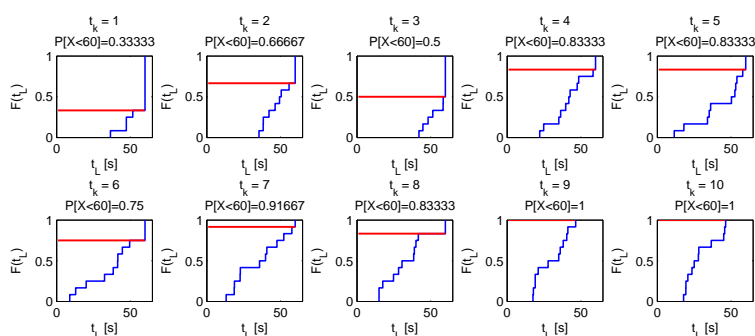
Na obrázcích 6.9 a 6.10 jsou pro každý časový okamžik  $t_k$  daného testování uvedeny distribuční funkce  $F(t_L)$  a znázorněny hodnoty pravděpodobnosti úspěchu pro latenci v MWM a neúspěchu pro motoriku ve skupině trénované na válci s provedenou transplantací (červené hodnoty  $F(t_L)$ , jejichž číselné hodnoty jsou uvedeny nad jednotlivými grafy). Tyto

obrázky slouží pouze pro ilustraci využívané informace o pravděpodobnosti pro vyhodnocení experimentu.

Zde je vhodné připomenout, že hodnoty atributu úspěšnost  $u$  jsou závislé na metodice testování.



Obr. 6.9: Distribuční funkce doby strávené na válci v skupině trénované na válci s provedenou transplantací.



Obr. 6.10: Distribuční funkce latence (doby dosažení ostrůvku) ve skupině trénované na válci s provedenou transplantací.

Pro vyhodnocování měření a procesu učení lze, dle návrhů v kapitole 4.5, určit informační přínos každého následujícího testu daného experimentu, dále vydatnost a tím i kvalitu učení. Zde je vhodné připomenout, že předmětem této práce jsou metody měření a vyhodnocení a ne

modely procesu učení, proto dále uváděné výstupy platí za předpokladu, že platí heuristický model učení definovaný na základě posloupnosti  $\{u(t_k)\}_{t_k=1}^M$  konvergující k 0 či 1 dle metodiky experimentu, kde  $t_k$  značí jednotlivé časové okamžiky testování ( $M$  je počet provedených testů, na niž je definováno úplné ostré uspořádání ( $t_1 < t_2 < \dots < t_M$ )).

Informační přínos  $I(t_k|t_{k-1})$  ilustrativního testování, viz vztah (4.36), je uveden v následujících tabulkách 6.2 a 6.3. V případě motorického testování je pro výpočet hodnoty  $I_{apriori}$  využita varianta 2 pro určení  $p(t_h)$ , tj.  $p(t_h) = A_{apriori}(t_h)$ , kde  $A_{apriori}(t_h)$  je získán pomocí metody nejmenších čtverců identifikovaného apriori procesu učení  $A_{apriori}$  (viz kapitola 5.4).

Válec	$I(t_{1/2} t_{apriori})$	$I(t_{2/2} t_{1/2})$	$I(t_{3/2} t_{2/2})$	$I(t_{4/2} t_{3/2})$
transplantace	0.1253	-0.5146	0.0740	-0.1444
kontrola	-0.8372	-0.0931	0.0931	-0.1806
	$I(t_{1/3} t_{4/2})$	$I(t_{2/3} t_{1/3})$	$I(t_{3/3} t_{2/3})$	$I(t_{4/3} t_{3/3})$
transplantace	0.1444	-0.1444	0.1444	-0.2115
kontrola	0.1806	0.0000	0.0000	-0.0931
	$I(t_{1/4} t_{4/3})$	$I(t_{2/4} t_{1/4})$	$I(t_{3/4} t_{2/4})$	$I(t_{4/4} t_{3/4})$
transplantace	-0.1670	0.0780	0.0000	-0.1520
kontrola	0.1926	-0.2801	-0.0825	-0.1520

Tab. 6.2: Informační přínos testů na válci pro skupinu trénovanou na válci (dělených dle provedení transplantace)

Latence	$I(t_2 t_1)$	$I(t_3 t_2)$	$I(t_4 t_3)$	$I(t_5 t_4)$	$I(t_6 t_5)$
transplantace	-1.000	0.4150	-0.7370	0.0000	0.1520
kontrola	-0.3219	0.0000	-0.1375	0.0000	0.0000
	$I(t_7 t_6)$	$I(t_8 t_7)$	$I(t_9 t_8)$	$I(t_{10} t_9)$	
transplantace	-0.2895	0.1375	-0.2630	0.0000	
kontrola	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	

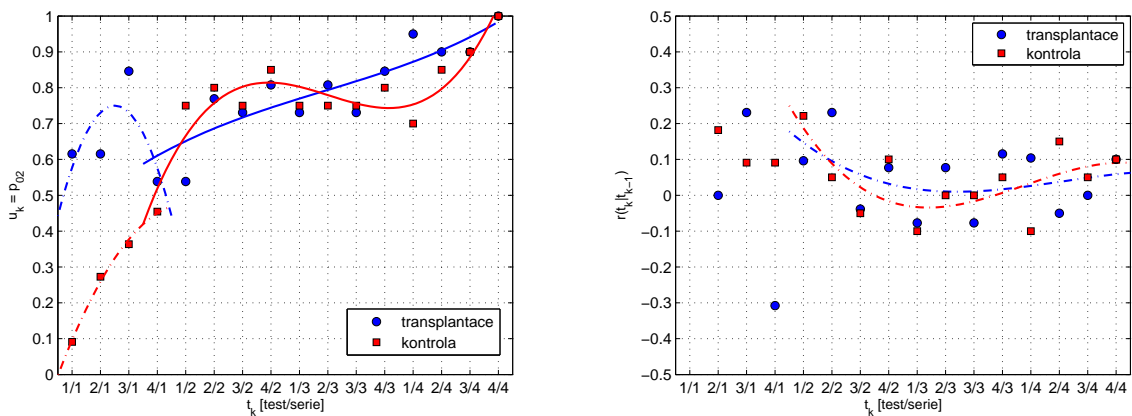
Tab. 6.3: Informační přínos testů v MWM (pro latenci) pro skupinu trénovanou na válci (dělených dle provedení transplantace)

Informační přínos udává rozdíl míry informace  $I$  dvou po sobě jdoucích testů. Záporná hodnota tímto značí, že míra informace v čase  $t_k$  je menší než v čase  $t_{k-1}$ . Hodnota informačního přínosu vlastně podává obdobnou informaci jako hodnota korelačního koeficientu, co se týče dostatečně vypovídajícího počtu provedených testů experimentu. V tomto případě však pro atribut úspěšnost  $u$ . Hodnoty informačního přínosu většinou v průběhu experimentu neklesají, ale oscilují kolem nuly. To značí, že z pohledu úspěšnosti nelze počet prováděných testů redukovat, spíše by bylo vhodnější provedení dalších testů. Obdobné výsledky obdržíme i pro testování kognitivní. Výjimkou je kontrolní skupina trénovaná na válci, pro kterou je informační přínos od 5. dne kognitivního testování hodnota informačního přínosu nadále nulová, a tudíž pro takovouto skupinu již není dále nutné provádění následujících testů (šest

testovacích dnů se jeví jako dostatečné pro vyhodnocení procesu učení), což je zřejmé i z dále uvedeného Obr. 6.12(b).

Hodnoty informačních přínosů během experimentu na ostatních nářadích a ve skupinách netrénovaných jedinců a jedinců trénovaných plaváním jsou uvedeny na příloženém CD.

Na základě provedených měření lze proces učení hodnotit dle samotné hodnoty úspěšnosti  $u$  a vydatosti učení  $r(t_k|t_{k-1})$ , viz vztah (4.37). Proměnná  $r$  neznačí korelační koeficient, ale vydatnost učení popsanou v kapitole 4.5.2, která udává rozdíl hodnoty úspěšnosti dvou po sobě jdoucích testů, tj. hodnot  $p_{02}$  pro testování motorické a  $p_{01}$  pro testování kognitivní, viz vztah (2.1). Vývoj vydatnosti učení by v případě atributu úspěšnost měl odpovídat vývoji informačního přínosu.



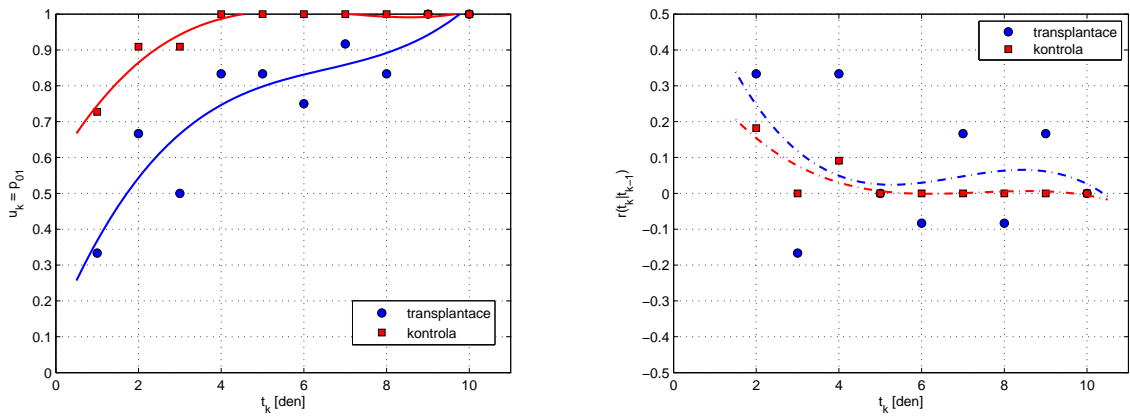
(a) pravděpodobnost úspěchu testování na válci ve skupině trénované na válci

(b) vydatnost učení při testování na válci ve skupině trénované na válci (dle  $u$ )

Obr. 6.11: Úspěšnost a vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

Na Obr. 6.11(a) a 6.12(a) jsou zobrazeny hodnoty pravděpodobnosti úspěchu -  $p_{02}$  pro motorické testování, resp.  $p_{01}$  pro kognitivní testování, pro obě skupiny trénované na válci porovnávané dle provedení transplantace. Na  $x$ -ové ose jsou opět uvedeny jednotlivé časové okamžiky testování (v případě motorického testování test/série, v případě kognitivního testovací den). Pro znázornění procesu učení je pro každou skupinu vykreslena křivka učení identifikovaná interpolací metodou nejmenších čtverců (modrá křivka pro skupinu s provedenou transplantací, červená pro skupinu kontrolní).

Z uvedených obrázků je zřejmé, že ve skupině trénované na válci po provedení transplantace (od druhé série, tj. od  $t_k = 1/2$ , první série značí apriori informaci před provedenou transplantací) dochází k postupnému nárůstu úspěšnosti přes všechny prováděné série, jak pro motorický test, tak pro test kognitivní. Ve skupině kontrolní pro motorický test dochází k nárůstu úspěšnosti v sérii druhé (tj. po provedené transplantaci ve skupině označené jako transplantované), poté k poklesu, resp. mírné stagnaci, ve třetí sérii testů a v závěrečné 4.



(a) pravděpodobnost úspěchu testování v MWM ve skupině trénované na válci

(b) vydatnost učení při testování v MWM ve skupině trénované na válci (dle  $u$ )

Obr. 6.12: Úspěšnost a vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci

sérii opět k nárůstu učení. V případě standardních metod vyhodnocení takovou informaci o dynamice procesu učení v rámci jednotlivých sériích není možno získat. Při kognitivním testování je skupina kontrolní daleko úspěšnější, již od 5. testu dosahuje maximální úspěšnosti.

Výše uvedené se týká popisu procesu učení z pohledu úspěchu testu, odpovídající standardnímu slovnímu popisu vyhodnocení experimentu. Důležité je ovšem vyhodnocení experimentu řešit v kontextu testování hypotézy  $H_0$ . Při samotném použití metody vyhodnocení pomocí atributu úspěšnost není možné využít pro testování platnosti hypotézy  $H_0$  statistické testy (např. Mann-Whitney U test či ANOVA). Při vyhodnocení tímto způsobem je k dispozici pouze jednotná informace, daná pravděpodobností přechodu do požadovaného koncového stavu  $p_{02}$ , resp.  $p_{01}$ . Podle hypotézy  $H_0$  má po určitém čase dosahovat skupina transplantovaných obdobných výsledků jako skupina kontrolní. Hypotézu  $H_0$  můžeme potvrdit či vyvrátit na základě vzdáleností pomocí identifikovaného procesu učení dle hodnot atributu  $u$ . Potvrzení hypotézy je však značně subjektivní. Proto je vhodné zaměřit se na vyhodnocení experimentu z pohledu vydatnosti učení.

Pokud jsou na začátku testování (nejlépe před provedením transplantace) motorické či kognitivní schopnosti uváděných dvou skupin značně rozdílné (předpokládejme počáteční horší schopnosti u skupiny transplantované), je pro potvrzení hypotézy  $H_0$  nutné, aby se skupina transplantovaná učila rychleji než skupina kontrolní (minimálně v době ihned po provedení transplantace).

Dle znázornění  $r(t_k|t_{k-1})$  na Obr. 6.11(b) a 6.12(b) je evidentní, že vydatnost učení v případě skupin trénovaných na válci víceméně postupně klesá, a to v obou skupinách porovnávaných dle provedení transplantace. Tímto se snižuje i kvalita učení  $\delta r_{t_k|t_{k-1}}$ , která

je dána posunem ukazatele kvality – vydatnosti učení, viz vztah (4.39).

Přesto je vydatnost učení, ale i zapomínání (záporná hodnota vydatnosti učení), u skupiny transplantované během prováděného testování celkově vyšší, což je jedním ze základních předpokladů potřebných pro *expertní* přijetí zmiňované hypotézy (ne matematické!). Zde je však nutno podotknout, že díky metodické časové limitaci experimentu je od 5. dne u kognitivního testování vydatnost nulová, jelikož není metodicky možné, aby k samotnému učení docházelo (z pohledu úspěšnosti nalezení ostrůvku, kdy již všichni jedinci byli vždy v časovém limitu úspěšni). Toto neplatí v případě doby nalezení ostrůvku  $t_L$ .

V případě hodnocení dle atributu úspěšnost je jako poslední krok vhodné určit míru učení/zapomínání  $V(t_k)$  z  $t_{k-1}$  do  $t_k$ , viz vztah (4.38). Zde je nutno brát ohled na znaménko vydatnosti učení, které udává, zda se jedná o míru učení či míru zapomínání. Nulová hodnota značí, že nedochází ani k učení, ani k zapomínání. Vyšší hodnota značí větší míru učení/zapomínání. V případě, že během testování dojde k zapomínání a v dalším testu k učení je tedy míra učení vyšší, než kdyby předtím k zapomínání nedošlo.

Pro motorické testy na válci ve skupině trénované na válci je největší míra učení v první sérii po provedené transplantaci v případě transplantované skupiny a v případě skupiny kontrolní u druhého testu té samé série. Obecně největší míra zapomínání je ihned po provedení transplantace. Za kritický test by bylo možné označit vždy třetí test dané série.

U kognitivního testování je největší míra učení 2. den (vztaženo ke dni prvnímu, jelikož není možno z metodiky experimentu využít apriori informace). V případě využití apriori informace by tímto dnem byl nejspíš první den učení. Za kritický by bylo možné v tomto případě označit třetí den, kdy se projevila největší míra zapomínání u kognitivního testování. Vzhledem k výše uvedenému (nulové vydatnosti v druhé polovině testování v MWM) je míra učení ve skupině kontrolní od 5. dne nulová.

Jak již bylo zmíněno, samotný popis procesu vyhodnocení z pohledu atributu úspěšnost  $u$  je nedostatečný. Systém definující proces učení je však popsán souborem atributů  $y_k$ , který přísluší časovému okamžiku  $t_k \in T$  a soubor atributů je dán jako  $y_k = [u_k, \tau_k]$ . V tomto případě je pak hodnocena úspěšnost i doba setrvání na náradí či doba nalezení ostrůvku, pro kterou je již možné pro testování platnosti hypotézy  $H_0$  statistické testy použít. Tato metoda tedy není samostatně pro vyhodnocení experimentu zcela dostačující.

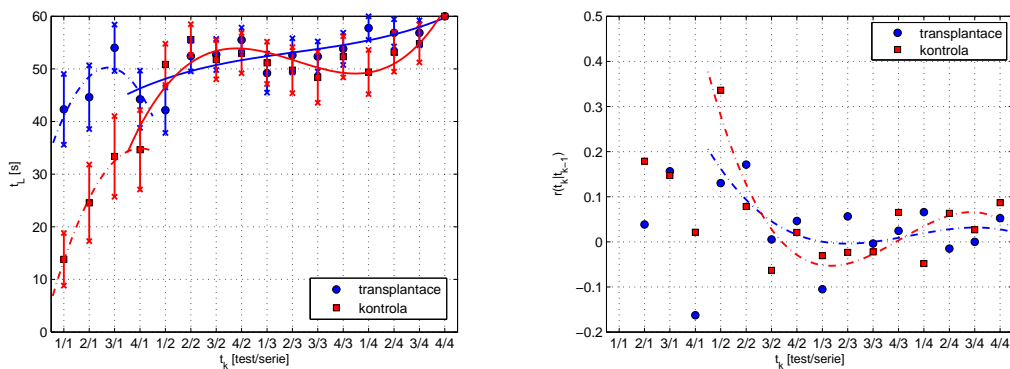
Další nevýhodou tohoto přístupu je zanedbání informace o učení v případech motorických testů. Během testování k učení dochází i v případech, kdy test není vyhodnocen jako úspěšný. Dochází ale k přibližování času strávenému na náradí k času limitnímu, definovanému metodikou experimentu.

Konkrétní hodnoty kvality a míry učení jsou uvedeny na příloženém CD.

### Analýza experimentu dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu $\tau$

Na úvod této části je vhodné připomenout, že z pohledu analýz procesu učení dle jednotlivých faktorů na základě provedených experimentů je potřebná informace o celé vybrané skupině, tj. o všech testovaných jedincích. V této a následující části textu je provedena analýza časového rozložení opuštění počátečního stavu. Analýza je založena na využití parametrů normálního rozdělení, tj. odhadu střední hodnoty, směrodatné odchylky a chyby průměru doby opuštění počátečního stavu, určených z měření všech jedinců v dané skupině, tj. všech  $\tau_{k,n}$ , či-li  $t_L$  (viz kapitola 2.1).

Níže v textu je ilustrována analýza experimentu dle odhadu středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau - \mu_{t_L}$  (průměrem)  $\pm SEM_{t_L}$  (chybou průměru), jež je běžně užívána především pro vyhodnocení experimentů kognitivního testování. Tato analýza, stejně jako analýza dle střední hodnoty a směrodatné odchylky, je provedena analogicky jako dle atributu úspěšnost  $u$ . Též se zabývá i vydatností učení – tentokrát z pohledu veličiny  $\tau$ , tj.  $t_L$ , která je normovaná limitním časem  $t_{lim}$  dle metodiky experimentu. V tomto případě  $t_{lim} = 60$  s.



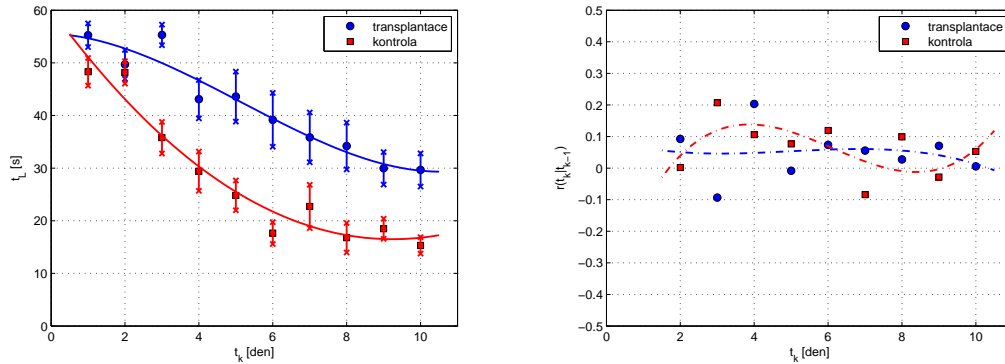
(a) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování na válci ve skupině trénované na válci (b) vydatnost učení při testování na válci ve skupině trénované na válci (dle  $\tau$ )

Obr. 6.13: Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru (odhad chyby střední hodnoty), vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

Na Obr. 6.13 a 6.14 jsou zobrazeny hodnoty průměru a chyby průměru času a křivka vydatnosti učení pro  $t_L$  setrvání na nářadí v dané skupině pro motorické testování, resp. času  $t_L$  nalezení ostrůvku pro testování kognitivní, pro skupinu s provedenou transplantací a bez provedené transplantace trénované na válci porovnáváné dle provedení transplantace (stejně jako pro předchozí analýzu zde modrá značí skupinu s provedenou transplantací, červená skupinu kontrolní). Na  $x$ -ové ose jsou opět uvedeny jednotlivé časové okamžiky testování.

Ačkoliv pro motorický test analýza poukazuje na výsledky obdobné jako pro úspěšnost na tomto testu, informace získané vyhodnocením  $\mu_{t_L}$  nemusí být vypovídající. Při většině testů se hodnoty  $\mu_{t_L} \pm SEM_{t_L}$  překrývají a tudíž se tímto vyhodnocením jeví, že ihned





(a) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování v MWM ve skupině trénované na válci (b) vydatnost učení při testování v MWM ve skupině trénované na válci (dle  $\tau$ )

Obr. 6.14: Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru (odhad chyby střední hodnoty), vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci

po transplantaci dosahuje transplantační skupina stejných výsledků jako skupina kontrolní. Navíc je velikost uváděných parametrů ovlivněna časovou limitací experimentu. Na druhou stranu, tato metoda přináší přesnější informaci o vydatnosti učení  $r(t_k|t_{k-1})$ , tím pádem i o jeho kvalitě, jelikož poukazuje i na nárůst učení (či pomalejší zapomínání) i u jedinců, kteří nebyli v testech úspěšní a přesto u nich k učení/zapomínání docházelo (viz Obr. 6.13(b) oproti Obr. 6.14(b)). V případě hodnocení dle atributu doba  $\tau$  nelze z principu určit velikosti informačních přínosů, ale pouze zmiňovanou vydatnost učení.

U kognitivního testování je dle vývoje středních hodnot atributu  $\tau$  po celou dobu experimentu znatelný rozdíl mezi schopnostmi jedinců v porovnávaných skupinách. I když v posledním dni testu byli všichni jedinci již úspěšní, tj. našli ostrůvek do 60 s, viz např. Obr. 6.12(a). Doba opuštění počátečního stavu (dle modelu na Obr. 2.1) se však v obou skupinách snižuje, viz Obr. 6.14(a). V tomto případě je právě proto na místě sledovat vydatnost učení, zjistit, zda se některá z porovnávaných skupin neučí rychleji. Pokud by tomu tak v případě transplantované skupiny bylo, je to předpokladem pro přijetí hypotézy  $H_0$ .

Podle výsledků vydatnosti učení lze vyvodit, že v posledních dnech experimentu (především ve skupině s provedenou transplantací) dochází stále k učení, i když se vydatnost učení u obou skupin přibližuje k nule. Je možné, že v následujících testech by bylo vidět, že se ve skupině kontrolní pomalu začne snižovat i úspěšnost kognitivního testu, což by odpovídalo části hypotézy  $H_0$ : *Při transplantaci embryonální tkáň mozečku dojde k obnově kognitivních schopností.*

Pro ověřování platnosti hypotézy  $H_0$  lze využít výše zmíněný přístup, obdobně jako u metody vyhodnocení pomocí atributu úspěšnosti  $u$ . Kromě vydatnosti učení lze v tomto případě využít i standardní statistické testy (např. Mann-Whitney U test, t-test či ANOVA

pro  $t_L$ ). V případě motorických testů by však vyhodnocení mělo probíhat samostatně pro jednotlivé testy v sérii. Posouzení přijetí či zamítnutí hypotézy  $H_0$  je na základě kombinace uvedených přístupů a získaných částečných výsledků na samotném odborníkovi, stejně jako u standardního způsobu vyhodnocení.

Jak již bylo zmíněno, základní nevýhodou uvedeného přístupu je nedostatečně vypovídající schopnost vyhodnocení z důvodu překrývání intervalů  $\mu_{t_L} \pm \text{SEM}_{t_L}$  a ovlivněním hodnot parametrů časovou limitací experimentu. Na druhou stranu hlavní výhodou je interpretovatelnost výsledků ze strany odborníka a zahrnutí učení u motorického testování i v případě neúspěšnosti testu.

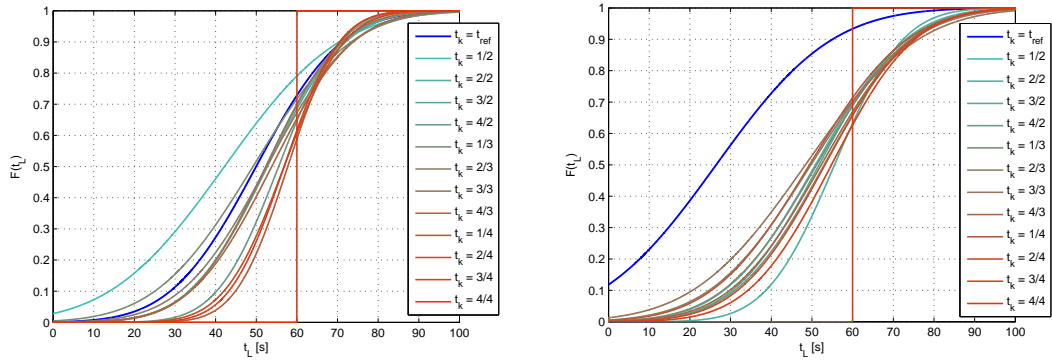
### Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti $W_d$ a $D_p$

Dále uvedená analýza vychází z hodnocení statistické vzdálenosti  $t_L$  v pravděpodobnosti  $D_p(\cdot)$  (dále značena jen  $D_p$ ) a hodnocení v jednotkách náhodné proměnné  $W_d(\cdot)$  (dále značena jen  $W_d$ ), viz vztah (4.16) a (4.28). Za referenční  $F_{ref}(t_L)$  pro využití ve vztahu (4.16) a  $F_{ref}^{-1}(z)$  pro (4.28) je v případě motorického testu považována distribuční funkce, resp. inverzní distribuční funkce, získaná z mediánů schopností jednotlivých jedinců z testů provedených před transplantací (apriori informace), v případě testu v MWM první provedený test, jelikož žádná apriori informace ohledně kognitivního testování není k dispozici. Hodnota mediánu jako referenční hodnoty je zvolena z důvodu jednotnosti přístupu.

V této analýze je využito hodnocení statistické vzdálenosti pro určení procesu učení na základě aproximace normálním rozdělením  $N(\mu, \sigma)$ , nehodnotí se jím odchylky vybraného rozdělení od empirické distribuční funkce (proto je využívána míra v  $L1$ ) a tedy  $t_{lim} = \infty$ . Na tomto místě je důležité zdůraznit, že se k určení statistické vzdálenosti používá distribuční funkce získaná aproximací empirických dat normálním rozdělením, je plocha vzdáleností  $D_p$  a  $W_d$  stejná.

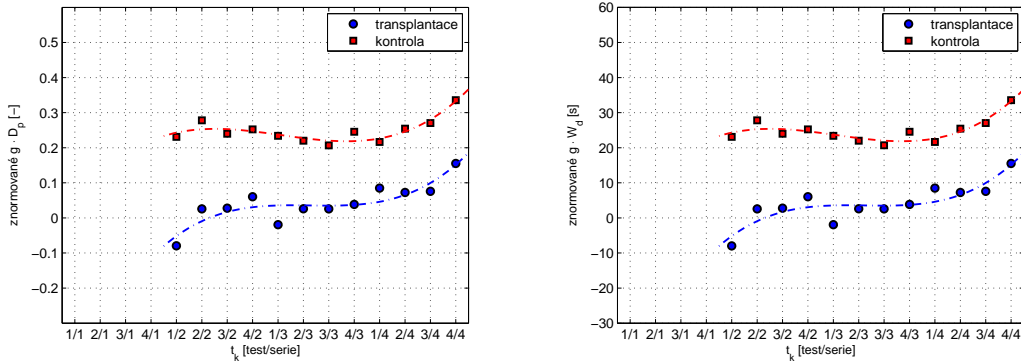
Po úpravě (znormování dle daných jednotek) hodnota  $W_d$  udává v případě motorického testu prodloužení doby pádu z nářadí a v případě kognitivního testu zkrácení doby nalezení ostrůvku od hodnoty referenční (v sekundách),  $D_p$  značí nárůst pravděpodobnosti dosažení limitní hodnoty experimentu pro test motorický či okamžitého nalezení ostrůvku v případě testu kognitivního. V případě využití uvedených metod je v grafech zobrazována konkrétně znormovaná hodnota  $g \cdot D_p$  a  $g \cdot W_d$ , tj. velikost statistické vzdálenosti znormovaná dle jednotek včetně hodnoty ukazatele učení-zapomínání  $g$  (viz např. Obr. 6.16).

Pro úplnost analýzy jsou nejdříve uvedeny distribuční funkce pro jednotlivé skupiny trénované na válci, využívané pro vyhodnocení experimentu dle  $W_d$  a  $D_p$  (viz 6.15). Referenční  $F_{ref}(t_L)$  je zvýrazněna (modrá křivka), na  $x$ -ové ose jsou hodnoty atributu  $\tau$ , tzn.  $t_L$ .



(a)  $F(t_L)$  testování na válci ve skupině trénované na válci s provedenou transplantací (b)  $F(t_L)$  testování na válci v kontrolní skupině trénované na válci

Obr. 6.15: Distribuční funkce testování na válci  $F(t_L)$  pro skupiny trénované na válci

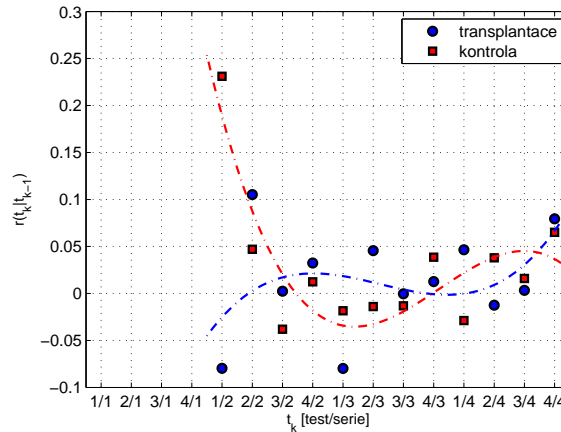


(a) statistická vzdálenost  $D_p$  testování na válci ve skupině trénované na válci (b) statistická vzdálenost  $W_d$  testování na válci ve skupině trénované na válci

Obr. 6.16: Znormované statistické vzdálenosti  $D_p$  a  $W_d$  při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

Z hlediska vyhodnocení procesu učení a interpretace výsledků je vhodné zaměřit se na využití výsledků analýzy experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti z hlediska testování platnosti hypotézy  $H_0$ . Stejně jako v předchozích případech se lze zaměřit na vydatnost učení získanou z velikostí statistických vzdáleností. Jak již bylo řečeno, z definice mír  $W_d$  a  $D_p$  je plocha stejná a tudíž i vydatnost učení je pro obě dvě metody stejná. Z tohoto důvodu je uveden graf  $r(t_k|t_{k/1})$  jako společný (viz Obr. 6.17).

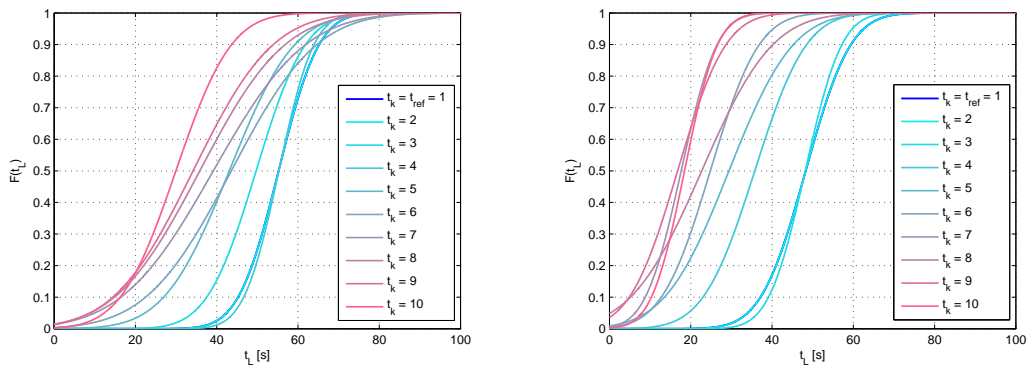
Dle výstupů na Obr. 6.16 a 6.17 lze vyvodit, že skupina kontrolní trénovaná na válci se z počátku při testování na válci učí rychleji, resp. nárůst doby strávené na nářadí je oproti době před provedenou transplantací větší. Avšak zlepšení ve skupině transplantované se postupně blíží zlepšení ve skupině kontrolní, vydatnost učení je ve skupině transplantované průměrně vyšší než ve skupině kontrolní, kde častěji dochází k zapomínání/stagnaci schopností, především v třetí sérii.



Obr. 6.17: Vydatnost učení při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci dle parametrů  $D_p$ , resp.  $W_d$

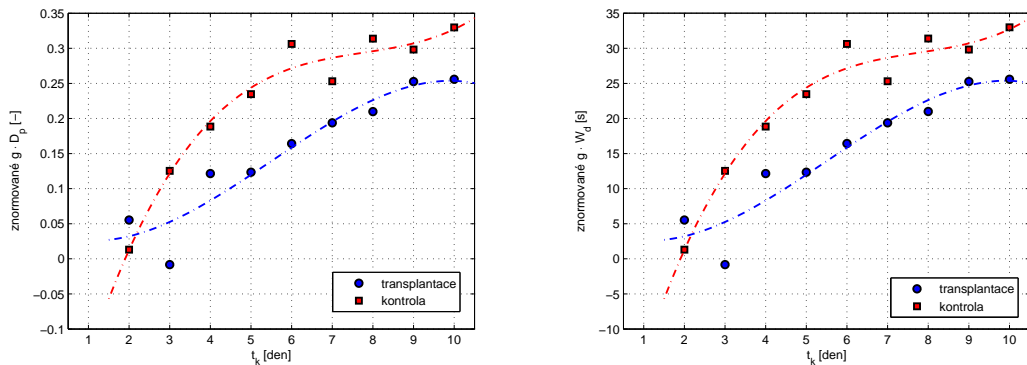
Zde je vhodné ještě podotknout, že za  $F_{ref}(t_L)$ , resp.  $F_{ref}^{-1}(z)$ , by též bylo možné využít aproximace jednotlivých měření první série, tj. určovat statistickou vzdálenost ke konkrétnímu  $x/1$ . V případě jakéhokoliv „výjimečného“ testu by však mohly být výsledky zkresleny. Proto je vhodné použít jako referenční funkci takovou, která vystihuje celý předchozí stav schopností jedinců, tzn. kompletní apriori informaci.

Obdobně je provedena analýza i pro kognitivní testování v MWM. Nutno připomenout, že v případě testování v MWM je z principu učení definován parametr  $g$  přesně opačně oproti motorickým testům (viz vztah 4.17). V souvisejících grafech na Obr. 6.19 je obdobně jako pro motorické testování znázorněn pro přehlednost vývoj normovaných hodnot  $g \cdot D_p$  a  $g \cdot W_d$  ve skupině trénované na válci.



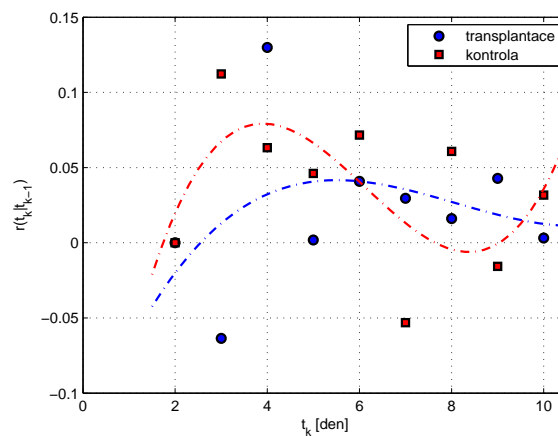
(a)  $F(t_L)$  testování v MWM ve skupině trénované na válci s provedenou transplantací (b)  $F(t_L)$  testování v MWM v kontrolní skupině trénované na válci

Obr. 6.18: Distribuční funkce testování v MWM  $F(t_L)$  pro skupiny trénované na válci



(a) statistická vzdálenost  $D_p$  testování v MWM (b) statistická vzdálenost  $W_d$  testování v MWM  
ve skupině trénované na válci

Obr. 6.19: Znormované statistické vzdálenosti  $D_p$  a  $W_d$  při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci



Obr. 6.20: Vydatnost učení při testování v MWM pro skupinu trénovanou na válci dle parametrů  $D_p$ , resp.  $W_d$

Interpretace výsledků analýzy odpovídá interpretaci při analýze motorického testování. Postupně během kognitivního testování dochází k přibližování schopností transplantované a kontrolní skupiny, i když učení u kontrolní skupiny je rychlejší.

Dle výsledků analýzy uvedenou metodou můžeme zjistit, jakým způsobem se jednotlivé skupiny zlepšují či zhoršují, tj. o kolik sekund či o kolik procent se mění jejich výsledky. Z vydatnosti učení též zjistíme, zda se skupiny učí rychleji dle předpokladů či nikoliv. Výhodou tohoto přístupu je, že potvrzování hypotézy  $H_0$ : *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností* je nezávislé na odchylkách počátečního stavu mezi jednotlivými skupinami (apriori informace). Na základě vývoje velikosti statistické vzdálenosti je přesně popsán proces učení včetně popisu zlepšení/zhoršení v příslušných jednotkách. Nevýhodou je nutnost využití apriori informace.

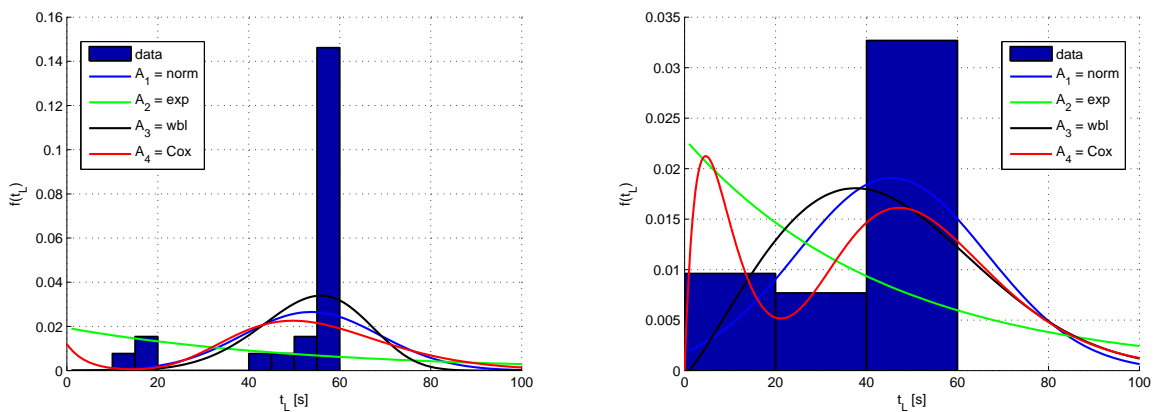
Stejně jako v případě vyhodnocení experimentu dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$  lze i zde pro podporu přijetí/zamítnutí hypotézy  $H_0$  odborníkem použít standardní statistické testy (např. Mann-Whitney U test, t-test či ANOVA pro  $t_L$ ) k výše uvedenému, jelikož přístup vychází také z hodnot atributu  $\tau$ .

Konkrétní výsledky pro ostatní skupiny dělené dle tréninku a ostatní metody testování jsou opět uvedeny na příloženém CD.

### 6.3.3 Nové metody pro analýzu experimentu při volbě jiné aproximace než aproximace normálním rozdělením

Další část analýz je zaměřena na možné využití jiných aproximací naměřených hodnot než je standardně užívaná aproximace normálním rozdělením. Cílem je určit, zda je možné nalézt vhodnější aproximaci, resp. jaké jsou důsledky využívání aproximace normálním rozdělením. Metoda a přístupy jsou opět demonstrovány především na testu válec ve skupině trénované na válci.

Na obrázku 6.21 jsou zobrazeny hustoty pravděpodobnosti čtyř testovaných rozdělení, konkrétně normálního  $A_1$ , exponenciálního  $A_2$ , Weibullova  $A_3$  a Coxova fázového rozdělení  $A_4$ . Tyto byly vybrány z důvodu časté využívanosti při řešení kybernetických úloh. Coxovo fázové rozdělení navíc ještě z důvodu své definice, jelikož z principu nemůže nabývat záporných hodnot. Coxovo rozdělení je také využíváno v oblasti biokybernetiky, avšak pro jiné typy úloh (např. [17]).



- (a) hustoty pravděpodobnosti  $t_L$  pro test  $t_k = 3/2$  na válci ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci
- (b) hustoty pravděpodobnosti  $t_L$  pro test  $t_k = 4/3$  na hrazdě ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci

Obr. 6.21: Hustota pravděpodobnosti různých aproximací pro skupinu trénovanou na válci pro motorický test na válci a na hrazdě

Pro ilustraci jsou vybrány dva konkrétní testy, test na válci, kdy se schopnosti většiny jedinců přibližují k hraniční hodnotě  $t_{lim}$  a test na hrazdě, kdy jsou hodnoty schopností více

rozprostřeny v intervalu  $(0; t_{lim})$ . Rozprostření dat v daném intervalu determinuje vhodnost aproximace především Coxova fázového rozdělení. Čím více je k dispozici naměřených dat a čím více jsou rozloženy v daném časovém intervalu, tím přesnější je identifikace parametrů a aproximace tímto rozdělením je blíží empirickým datům.

Jen pro úplnost je zde vhodné zmínit, že pro vykreslení histogramu je využito Sturgesovo pravidlo pro určení vhodného počtu zobrazovaných intervalů  $k = 1 + 3.322 \log n$ , kde  $n$  je počet testovaných jedinců.

K odhadu parametrů či momentů vybraných rozdělení lze využít různé teoretické metody. Současné statistické softwarové toolboxy umožňují realizaci odhadu parametrů vybraných rozdělení za využití těchto metod. V případě normálního, exponenciálního a Weibullova rozdělení byly využity funkce statistického toolboxu softwarového nástroje MATLAB (normfit, expfit a wblfit), založené na metodě porovnávání momentů (moment matching) pro maximálně věrohodný odhad (95% interval spolehlivosti). Pro odhad parametrů Coxova fázového rozdělení byla využita metoda identifikace parametrů dle kritéria srovnatelného s  $\chi^2$  testem, vyvinutá na Katedře kybernetiky ZČU (více viz [14]).

Vhodnost vybraných aproximací je určována metodami popsány v kapitole 5.2. Jednou z metod porovnání vhodnosti aproximací je  $\chi^2$  kritérium, viz vztah (5.45). Aproximace  $\chi^2$  není často v případě tohoto experimentu věrohodná, jelikož při intervalovém rozdělení četností pro využití kritéria nesmí mít žádný interval nulovou četnost a maximálně 20% intervalů může mít četnost menší než pět. Vzhledem k počtu dat v jednotlivých skupinách nejsou splněny předpoklady pro využití tohoto kritéria. Proto zde nejsou uvedeny výsledky této metody.

Pro porovnání aproximace zvoleným rozdělením a empirických dat je tímto využito metod hodnocení v pravděpodobnosti a hodnocení v jednotkách náhodné proměnné. Pro zvýraznění odchylek jednotlivých aproximací náhodné veličiny  $\tau$  je vztah (4.16) udávající vzdálenost aproximace od empirického rozdělení upraven do tvaru:

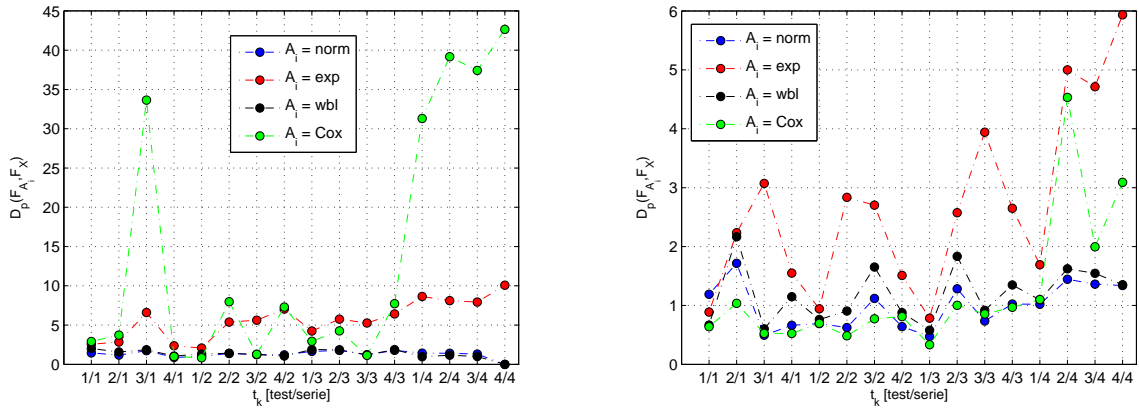
$$D_p(F_{Y_k}, F_{Y_{ref}}) = \int_0^{t_{lim}} (F_k(z) - F_{ref}(z))^2 dz \quad \text{pro } k = 1, \dots, M. \quad (6.56)$$

kde  $F_{ref}(z)$  odpovídá empirické distribuční funkci,  $M$  je počet provedených testů a  $t_{lim}$  je z principu experimentů 60 s. Obdobně je upraven i výpočet pro  $W_d^p(P_1, P_2)$ .

Nejvhodnější aproximace je zvolena dle minima kritériální funkce, jejímž parametrem je vybrané rozdělení (viz vztah (5.41), resp. (5.42)). Je nutné se zamyslet, dle kterého kritéria ( $D_p(\cdot)$  či  $W_d(\cdot)$ ) aproximaci volit, jelikož v tomto případě se jedná o vzdálenost od empirické distribuční funkce, tudíž  $D_p(\cdot) \neq W_d(\cdot)$ . Vyhodnocení v jednotkách náhodné proměnné  $W_d(\cdot)$  je více ovlivněno limitací času  $t_{lim}$  dle metodiky experimentu, odchylka aproximace je díky limitaci navýšena. Pokud je cílem získání co nejpřesnější aproximace, lze se domnívat, že je lepší volit vhodnou aproximaci za využití  $D_p(\cdot)$ .

Hodnocení  $D_p(\cdot)$  by mělo z principu výpočtu podávat přesnější informace o vývoji v čase do  $t_{lim}$  a nebyť zatíženo určováním vzdálenosti  $t_{lim}+$ . Lze též usuzovat, že pro predikci vývoje zmiňovaného náhodného procesu v čase  $t > t_{lim}$  dané aproximace by bylo též vhodnější volit aproximaci dle kritéria  $D_p(\cdot)$ . Pro ověření tohoto tvrzení by však bylo nutné delší pozorování, např. do  $t_{lim} = 100$  s.

Na následujícím obrázku 6.22 je vykreslena hodnota odchylek  $D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$  v jednotlivých časových okamžicích  $t_k$ , kde  $F_X$  značí empirickou distribuční funkci a  $F_{A_i}$  distribuční funkci vybraného rozdělení aproximujícího empirická data. Jedná se o odchylky pro test na válci a hrazdě ve skupině trénované na válci a s provedenou transplantací, vzhledem k ilustrativnímu obrázku 6.21.



(a) odchylky aproximací pro test na válci ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci

(b) odchylky aproximací pro test na hrazdě ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci

Obr. 6.22: Odchylky aproximací  $D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$  pro skupinu s provedenou transplantací trénovanou na válci při testování na válci a hrazdě

$A_i$	$D_p(A_i)_{hrazda}$	$D_p(A_i)_{zebrík}$	$D_p(A_i)_{valec}$	$D_p(A_i)_{MWM}$	$D_p(A_i)_{open-field}$
normální r.	0.9886	1.4305	1.2944	0.2963	8.4418
exponenciální r.	2.6888	2.0264	5.6851	3.4219	164.5619
Weibullovo r.	1.1921	1.5171	1.3449	0.3161	7.7057
Coxovo fázové r.	1.2106	1.4008	14.0803	0.5464	1074.7855

Tab. 6.4: Hodnoty  $D_p(A_i)$  pro hodnocení vhodnosti vybraných aproximací pro skupinu trénovanou na válci s provedenou transplantací



V tabulce 6.4 jsou uvedeny hodnoty celkové odchylky aproximace  $D_p(A_i)$ . Hodnoty pro test doby strávené ve středové zóně bludiště zde nejsou uvedeny, jelikož pro uvedenou skupinu toto měření prováděno nebylo.

Pro motorický test na válci ve skupině s provedenou transplantací je za nejvhodnější aproximaci dle minima kritériální funkce, s využitím upraveného tvaru pro určení  $D_p(F_{Y_k}, F_{Y_{ref}})$  dle rovnice (6.56)), vyhodnocena aproximace normálním rozdělením. Celkově dle metodiky testování je bez ohledu na provedený trénink nejlepší aproximace normálním rozdělením pro test na válci, v případě testu na hrazdě a žebříku Coxovo fázové rozdělení (díky větší rozptřčenosti dat).

Při výpočtu odchylek jednotlivých aproximací je zřejmá důležitost výpočtu v  $L2$ , která zvýrazňuje větší odchylky, jelikož v případě výpočtu odchylek v  $L1$  je v případě uváděného testu na válci vyhodnocena jako stejně vhodná aproximace normálním a Weibullovým rozdělením. Pokud se blíže zaměříme např. na hodnocení aproximací znázorněné na Obr. 6.22(a), zde je i v  $L2$  zřejmá velmi malá vzdálenost odchylek pro tyto dvě aproximace jednotlivých měřených testů.

Na tomto místě je vhodné připomenout, že standardně se motorický test vyhodnocuje za pomoci rovnoměrného diskrétního rozdělení, resp. kvantování úspěšnosti, tzn. v tomto případě často není vyhodnocena náhodná veličina  $\tau$ . Tímto se ztrácí množství informací. Je ovšem nutno říci, že při vyhodnocení záleží, jakou informaci chce odborník získat. Proto není odborníky nejspíš standardně pro motorický test využita ani aproximace rozdělením normálním. Avšak využitím momentů pro vyhodnocení se neztrácí tolik informace jako u běžně užívaného kvantování. Pokud by v případě tohoto experimentu bylo použito k vyhodnocení měření během experimentu odhadů parametrů normálního rozdělení pro popis  $\tau$ , získali by odborníci více informací.

Pro kognitivní test je pro celý experiment za celkově nejvhodnější vyhodnocena aproximace Weibullovým rozdělením. Přesto pro některé skupiny je srovnatelné či vhodnější Coxovo fázové či normální rozdělení. Pro fázové rozdělení je odchylka aproximace tím menší, čím více jsou výsledky měření nerovnoměrněji rozloženy do intervalu  $(0; t_{lim})$  a čím méně jedinců je při testu neúspěšných. V případě experimentů prováděných v MWM daleko více než u testů motorických záleží na rozložení výsledků měření, tj. tvaru  $\tau_k$  vyhodnocované skupiny.

V případě testování doby strávené ve středu MWM za celkově nejvhodnější aproximaci byla určena aproximace Weibullovým rozdělením a pro test open-field srovnatelně rozdělením Weibullovým a normálním. Vzhledem k tomu, že test open-field nemá metodicky z hlediska registrované dráhy stanovenou hodnotu  $s_{lim}$  pro určení statistické vzdálenosti  $Dp(F_{Y_k}, F_{Y_{ref}})$  odpovídající  $t_{lim}$  ve vzorci (6.56), je tato pro výpočet odchylky stanovena jako  $s_{lim} = \infty$ .

Konkrétní hodnoty odchylek dle kritériální funkce jsou uvedeny na příloženém CD.

Vzhledem k tomu, že se pro každý test experimentu hledá nejlepší aproximace, bylo by možné hodnotit experiment např. pomocí metod hodnocení v pravděpodobnosti a hodnocení v jednotkách náhodné proměnné za využití nejvhodnější aproximace ne pro celý experiment, ale pro každý jednotlivý test. Vyhodnocení tímto způsobem je složitější z důvodu nutnosti odhadu parametrů všech rozdělení. Zde by bylo vhodné mít na zřeteli informaci o odchylce  $\Delta D_p(A_i|t_k)$  (viz vztah (5.43)) vycházející ze znalosti  $D_p(R)$  (viz vztah (5.41)). Tento přístup je demonstrován v dále uvedené části Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti  $D_p$  atributu doba vstupu  $\tau$  dle zvolené aproximace.

### **Analýza experimentu dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu $\tau$ dle zvolené aproximace**

Proces učení i vzdálenost procesů v jednotlivých skupinách je možné popsat pomocí parametrů či momentů jednotlivých rozdělení. Pro uvedená využívaná rozdělení jsou pro identifikaci parametrů používány aproximační metody založené na moment-matching (výpočet parametrů z momentů). Vlastnost rovnosti momentů byla experimentálně ověřena. Odchytky vyhodnocení experimentu za využití vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$  jakékoli uvedené aproximace od využití aproximace normálním rozdělením jsou téměř nulové (maximální odchylka dosahovala hodnoty 0.01, což lze přičíst numerickému řešení). Tudíž nemá smysl uvádět analýzu experimentu dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$ , jelikož odpovídají výsledkům pro užívanou aproximaci normálním rozdělením (viz kapitola 6.3.2).

Na místě je tedy zaměřit se na samotné parametry daných rozdělení, resp. co může přinést interpretace parametrů těchto rozdělení (viz kapitola 4.2). V případě exponenciálního rozdělení se jedná o parametr intenzity  $\lambda$ . Lze jej vnímat jako převrácenou hodnotu střední hodnoty, která je pro odborníky snadno interpretovatelná.

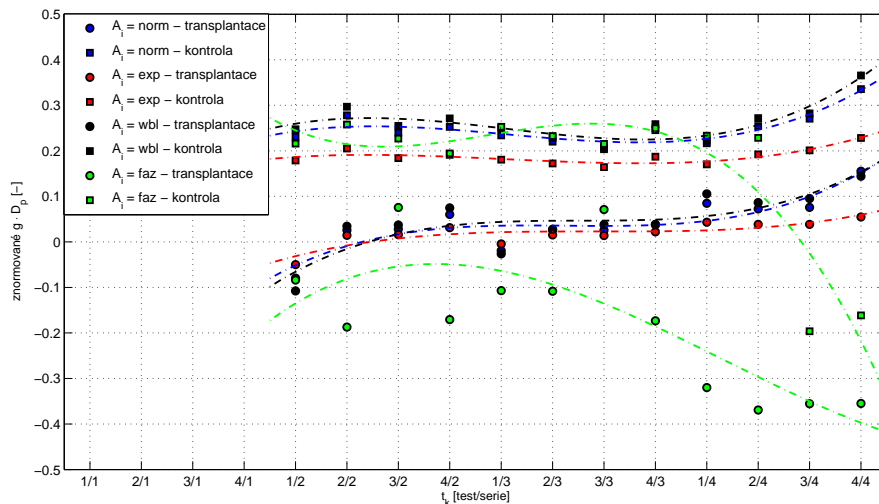
V případě Weibullova rozdělení samotný parametr  $\alpha$  je parametrem škály, který určuje míru „rozprostřenosti“ hodnot tohoto rozdělení pravděpodobnosti (změna tohoto parametru způsobuje jen změnu v měřítku, ne skutečnou změnu tvaru rozdělení) a  $\beta$  parametrem tvaru, který ovlivňuje tvar funkce hustoty pravděpodobnosti.

U Coxova fázového rozdělení jsou odhadovány parametry  $\lambda_i$  udávající intenzitu setrvání ve stavu  $s_i$ , jehož interpretace z podstaty fázového modelu odpovídá  $\lambda$  pro rozdělení exponenciální a  $\beta_i$  pravděpodobnost přechodu ze stavu  $s_i$  do stavu absorpčního.

Interpretace výsledků pomocí uvedených parametrů však není pro odborníky příliš využitelná, resp. je složitá.

### Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti $W_d$ a $D_p$

Zde uvedená analýza odpovídá analýze provedené v kapitole 6.3.2 části Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti  $W_d$  a  $D_p$ , tentokrát však se zaměřením na vývoj dle aproximace jiné než normálním rozdělením. Proto není nutné znovu opakovat popis využitých metod, v této kapitole jsou shrnuty pouze výsledky analýz s využitím míry v  $L1$ . Za referenční  $F_{ref}(t_L)$  a  $F_{ref}^{-1}(t_L)$  je v případě motorického testu považována distribuční funkce získaná z mediánů schopností jednotlivých jedinců z testů provedených před transplantací (apriori informace). V případě testu v MWM je vzhledem k neprovedení testu před provedením transplantace za referenční požadován 1. provedený test experimentu. Stejně jako v analýze aproximace normálním rozdělením je níže ilustrativně uveden graf pro vyhodnocení znormovaná hodnota  $g \cdot D_p(\cdot)$ , kde  $D_p$  viz vztah (4.16) (dále značena jen  $D_p$ ) pro využívané aproximace (rozdělením normálním, exponenciálním, Weibullovým a Coxovým fázovým) pro test na válci ve skupině trénované na válci s provednou transplantací (viz Obr. 6.23).



Obr. 6.23: Proces učení dle (znormované) statistické vzdálenosti  $D_p$  při testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

Vyhodnocení procesu učení za využití  $D_p/W_d$  se odvíjí od vhodnosti využití aproximace. Informaci o učení/zapomínání a samotném procesu získaná při využití nevhodné aproximace může být nesprávná (konkrétně pro uváděný test na válci např. rozdělení fázové). Vývoj míry  $D_p$  mezi jednotlivými distribučními funkcemi dle využitých aproximací v porovnávané skupině v čase  $t_k$  je numericky ilustrován v tabulce 6.5. Kromě znormované hodnoty  $g \cdot D_p|A_i$  je v každém čase  $t_k$  uvedena velikost odchylky aproximace  $\Delta D_p(A_i|t_k)$ , viz vztah (5.43). Za referenční aproximaci dle analýzy popsané na začátku této kapitoly (Vhodnost vybraných aproximací) je v případě motorického testování (i samostatně pro ilustrativní příklad na válci) určena aproximace normálním rozdělením ( $R = norm$ ). Též je v tabulce uvedena

odchylka apriori distribučních funkcí (referenčních  $F_{ref}(t_L)$ ), ke kterým je výpočet statistické vzdálenosti  $D_p$  vztahován.

$A_i$	$\Delta D_p(A_i apriori)$	$g \cdot D_p(1/2) A_i$ $\Delta D_p(A_i 1/2)$	$g \cdot D_p(2/2) A_i$ $\Delta D_p(A_i 2/2)$	$g \cdot D_p(3/2) A_i$ $\Delta D_p(A_i 3/2)$	$g \cdot D_p(4/2) A_i$ $\Delta D_p(A_i 4/2)$
normální r.	0.0000	-0.0796 0.0000	0.0256 0.0000	0.0279 0.0000	0.0603 0.0000
exponenciální r.	3.5834	-0.0499 1.0777	0.0143 4.0081	0.0161 4.3599	0.0313 5.8476
Weibullovo r.	0.1293	-0.1077 0.3013	0.0343 0.0382	0.0371 0.0237	0.0746 0.1469
Coxovo fázové r.	0.2461	-0.0840 0.1733	-0.1871 6.5970	0.0755 0.0231	-0.1708 6.0887
$A_i$		$g \cdot D_p(1/3) A_i$	$g \cdot D_p(2/3) A_i$ $\Delta D_p(A_i 1/3)$	$g \cdot D_p(3/3) A_i$ $\Delta D_p(A_i 2/3)$	$g \cdot D_p(4/3) A_i$ $\Delta D_p(A_i 3/3)$
normální r.		-0.0194 0.0000	0.0261 0.0000	0.0257 0.0000	0.0384 0.0000
exponenciální r.		-0.0046 2.5868	0.0152 3.9853	0.0139 4.0561	0.0221 4.6367
Weibullovo r.		-0.0264 0.2379	0.0278 0.0889	0.0381 0.0075	0.0377 0.0872
Coxovo fázové r.		-0.1071 1.2830	-0.1083 2.4856	0.0710 0.0633	-0.1733 5.9286
$A_i$		$g \cdot D_p(1/4) A_i$ $\Delta D_p(A_i 1/4)$	$g \cdot D_p(2/4) A_i$ $\Delta D_p(A_i 2/4)$	$g \cdot D_p(3/4) A_i$ $\Delta D_p(A_i 3/4)$	$g \cdot D_p(4/4) A_i$ $\Delta D_p(A_i 4/4)$
normální r.		0.0848 0.0000	0.0724 0.0000	0.0757 0.0000	0.1551 0.0000
exponenciální r.		0.0432 7.2150	0.0385 6.6942	0.0385 6.6097	0.0546 10.0831
Weibullovo r.		0.1055 0.4642	0.0863 0.2471	0.0951 0.3101	0.1442 0.0000
Coxovo fázové r.		-0.3200 29.8775	-0.3692 37.7599	-0.3555 36.1022	-0.3548 42.6463

Tab. 6.5: Analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti  $D_p$  pro skupinu trénovanou na válci s provedenou transplantací při testování na válci s využitím aproximace různými rozděleními

Z uvedených hodnot je patrný vliv odchylky referenčních distribučních funkcí. U aproximace Weibullovým rozdělením jsou hodnoty statistické vzdálenosti  $D_p$ , i přes drobné odchylky při aproximaci jednotlivých empirických hodnot Weibullovým rozdělením a aproximaci normálním rozdělením, velice blízké. Výraznější referenční odchylka se vyskytuje u exponenciálního a fázového rozdělení. U Coxova fázového rozdělení je také v tomto případě zřetelné navyšování odchylky distribučních funkcí  $\Delta D_p(A_i|t_k)$  při posledních měřeních. S oběmi zmíněnými věcmi poté souvisí určení „nesprávných, odchýlených“ hodnot statistické

vzdálenosti.

Obdobně je provedena analýza i pro kognitivní testování v MWM, kde je zřetelný stejný vliv zvolené aproximace.

Konkrétní hodnoty odchylek jsou opět uvedeny na příloženém CD.

Ideálním přístupem k analýze experimentu dle statistické vzdálenosti by bylo využití vhodné aproximace pro každé měření na základě hodnot  $D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$ , kde  $F_X$  značí empirickou distribuční funkci (či apriori získanou distribuční funkci) a poté určení statistické vzdálenosti  $D_p(F_k, F_{ref})$ , resp.  $W_d(F_k, F_{ref})$ , kde  $F_{ref}$  je apriori získaná distribuční funkce a  $F_k$  je distribuční funkce získaná aproximací v čase  $t_k$  při využití aproximace s nejmenší hodnotou  $D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$ . To znamená využít nejednotné aproximace, což by mohlo být bráno jako nevýhoda takového přístupu. Hlavní výhodou je poté to, že výsledný získaný proces učení je mnohem kvalitnější než při zvolení jednoho konkrétního rozdělení pro aproximaci empirických dat. Metoda analýzy pomocí statistické vzdálenosti by mohla být samozřejmě využita přímo za využití empirických distribučních funkcí, ale vzhledem k častému malému počtu dat a metodickému omezení experimentu je aproximace pro interpretaci výsledků vhodnější, jelikož dojde k potlačení některých chyb. Jak již bylo několikrát zmíněno, problémem takového přístupu je však především náročnější metodika při určování nevhodnější aproximace pro každé provedené měření.

#### 6.3.4 Analýza chyb souvisejících s metodikou experimentu

Poslední podkapitola se zabývá možnými odchylkami způsobenými nevhodným způsobem měření a vyhodnocování experimentu definované v kapitole 5 související s předchozími uvedenými metodami analýz experimentu, tj. je zaměřena na vliv apriori informace, odchylky zvolené aproximace při změně počtu testovaných jedinců a důsledky nevhodné klasifikace dat experimentu. Pro analýzy je využita aproximace empirických dat normálním rozdělením, především z důvodu obecné využívanosti tohoto přístupu samotnými odborníky.

#### Analýza odchylek vyplývajících z nevyužití apriori informace

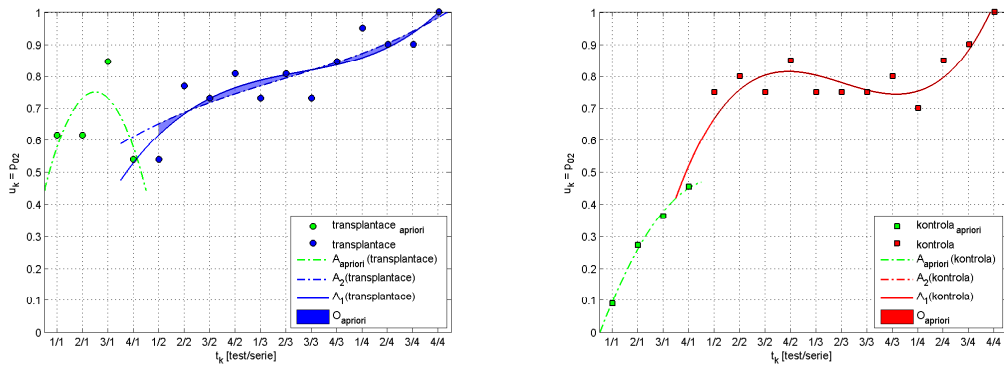
Využití apriori informace může mít významný vliv na samotné vyhodnocení experimentu. Jak bylo zmíněno v předchozí části práce, využití apriori informace je např. v případě analýzy experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti  $W_d$  a  $D_p$  téměř nezbytné.

Pro metodu analýzy experimentu dle úspěšnosti  $u$  a dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$  je využita Varianta výpočtu 2 (viz kapitola 5.4), tzn. za využití identifikovaného apriori procesu učení.

Pro využití při analýze dle vývoje statistické vzdálenosti je z principu metody a dříve uvedeného pro velikost odchylek  $O_{apriori}$  využita Varianta výpočtu 3, tzn.  $F_{ref}(t_L)$ , resp.  $F_{ref}^{-1}(z)$ . Apriori informace je získána z mediánu schopností před provedením transplantace.

Vzhledem k tomu, že není možné využít apriori informace pro kognitivní testování, analýza odchylek je demonstrována pouze pro testování motorické, konkrétně opět pro testování na válci. Informace o schopnostech před provedením transplantace nejsou v případě testování v MWM k dispozici.

Pro názornost jsou na Obr. 6.24 znázorněny aproximace pro úspěšnost v testu na válci v obou skupinách, tj. pro skupinu s provedenou transplantací i skupinu kontrolní, za využití a nevyužití apriori informace včetně znázornění odchylky.



(a) pravděpodobnost úspěchu testování na válci ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci  
(b) pravděpodobnost úspěchu testování na válci ve skupině kontrolní trénované na válci

Obr. 6.24: Odchylna úspěšnosti učení při testování na válci ve skupině trénované na válci při nevyužití apriori informace

Hodnota odchylky  $O_{apriori}$  při využití apriori informace je definována jako plocha mezi identifikovanými procesy učení za využití a nevyužití apriori informace, viz vztah (5.55). Aby bylo možné porovnat vliv využití apriori informace při jednotlivých metodách vyhodnocení je vhodné velikost plochy  $O_{apriori}$  znormovat. V Tab. 6.6 hodnota znormované odchylky  $O_{apriori} = 100$  značí maximální možnou odchylku (100%), tj. normovanou hodnotu definující plochu  $1 \times 1 : M$  v případě hodnocení využívajících atribut  $u$  či  $t_{lim} \times 1 : M$  v případě hodnocení využívajících atribut  $\tau$ , kde  $M$  je počet vyhodnocovaných testů.

Význam využití apriori informace v případě testování na válci u skupiny trénované na válci má větší význam ve skupině s provedenou transplantací (v případě hodnocení dle atributu úspěšnost). Toto je způsobeno apriori procesem učení získaným ze schopností před provedením transplantace, kdy je během předtransplantační série jeden test nestandardně úspěšný (viz Obr. 6.24). Stejně je tomu i v případě hodnocení experimentu dle vývoje středních hodnot dle atributu  $\tau$ .

VÁLEC	metoda vyhodnocení		
	$p_{02}$	$\mu \pm \text{SEM}$	$D_p$ , resp. $W_d$
Trénink na válci			
$O_{apriori}$ – transplantace	1.1374	0.7447	4.3067
$O_{apriori}$ – kontrola	0.0064	0.0500	11.3351
Trénink plaváním			
$O_{apriori}$ – transplantace	1.1660	0.6985	3.7499
$O_{apriori}$ – kontrola	0.4416	0.3497	8.5861
Bez tréninku			
$O_{apriori}$ – transplantace	0.0814	0.1677	3.4097
$O_{apriori}$ – kontrola	0.6641	0.8296	1.1566

Tab. 6.6: Hodnoty znormované odchylky  $O_{apriori}$  při testování na válci pro transplantovanou a kontrolní skupinu dle provedeního tréninku (max. možná odchylka  $O_{apriori} = 100$ )

Pro test na válci se odchylka vyhodnocení při analýze experimentu dle atributu úspěšnost  $u$  i při analýze experimentu dle vývoje středních hodnot atributu  $\tau$  pohybuje zhruba kolem 1%. Při využití  $\mu \pm \text{SEM}$  nabývá  $O_{apriori}$  ještě o něco nižších hodnot. Lze odvodit, že u těchto metod vyhodnocení není vliv apriori informace výrazný, přesto je dobré si být možných velikostí odchylek při interpretaci výsledků experimentu vědom.

V případě analýzy experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti distribučních funkcí jednotlivých měření se rozdíl projevuje v daleko větší míře (až 11.3351%). Toto je dáno samotnou metodikou výpočtu ploch  $D_p$ , resp.  $W_d$ , vycházející z definování  $F_{ref}(t_L)$ , resp.  $F_{ref}^{-1}(z)$ . A to i přesto, že v tomto případě nezávisí na rozdílnosti apriori znalostí mezi porovnávanými skupinami jako v případě prvních dvou uvedených metod analýzy experimentu.

Pro ilustrativní test na válci lze vyvodit závěr, že v případě nevyužití apriori informace je vhodnou variantou definovat proces učení na základě využití vyhodnocení pomocí střední hodnoty  $\mu \pm \text{SEM}$ , (či vyhodnocení úspěšnosti), což je standardně využíváno u kognitivního testu, kde apriori informace není k dispozici. Bylo prokázáno, že pro vyhodnocení metodou statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , je apriori znalost schopností jedinců nezbytná.

Odchylky získané pro ostatní motorické testy jsou uvedeny na příloženém CD. Zde jen zmiňme, že pro test na hrazdě a žebříku jsou velikosti odchylek zhruba stejné či menší než u testu na válci.

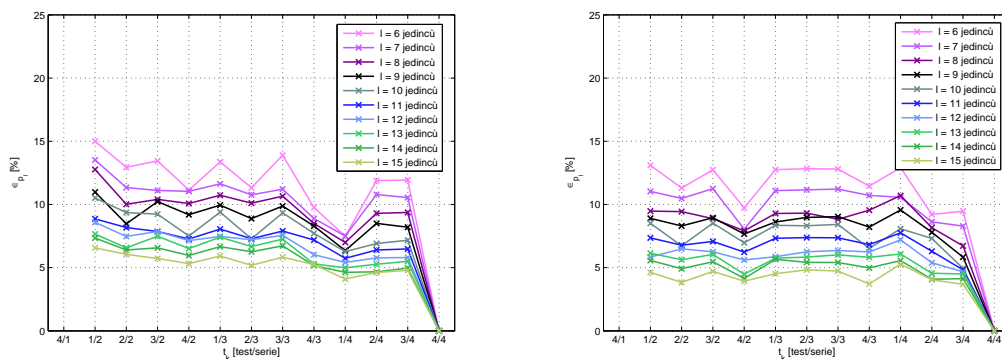
### Odchylky způsobené změnšujícím se množstvím dat

Citlivostní analýza je prováděna především z toho důvodu, že dle literatury je pro získání statisticky významných výsledků dostačující 6-10 testovaných inbredních jedinců v každé porovnávané skupině. V případě tohoto experimentu se jedná o testování schopností inbred-

ního kmene C57. Cílem této analýzy je zjistit, jak velkých procentuálních odchylek je možno se dopustit při využití malého množství dat. Ilustrativně je analýza opět provedena pro skupinu trénovanou na válci a konkrétně pro mototrický test na válci a kognitivní testování v MWM (latenci).

Na úvod jen připomeňme, že motorický test na válci ve skupině trénované na válci probíhal pro 26 jedinců s provedenou transplantací a pro 20 kontrolních jedinců, kognitivní test pro 12 jedinců s provedenou transplantací a pro 11 kontrolních. Apriori informace je pro motorické testování v obou skupinách uvedena zhruba pro polovinu jedinců. Z důvodu dalšího neomezování datového souboru není pro analýzu zmenšujícího se množství dat a určování odchylek metod a měření apriori informace využita.

Postupně jsou vybírány náhodné kombinace jedinců a vytvářeny soubory o velikosti  $l = 6 \div 15$ , dále pak  $l = 20, 25, 30, \dots$  jedinců až do 75% velikosti původního datového souboru (velikosti analyzované skupiny). Poté je v každém časovém okamžiku  $t_k$  z náhodných výběrů určena chyba metody  $\epsilon(t_k)$ , obdobně pak chyba měření  $\varepsilon(t_k)$ .



(a) chyba metody hodnocení pravděpodobnosti úspěchu testování na válci ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci (b) chyba metody hodnocení pravděpodobnosti úspěchu testování na válci v kontrolní skupině trénované na válci

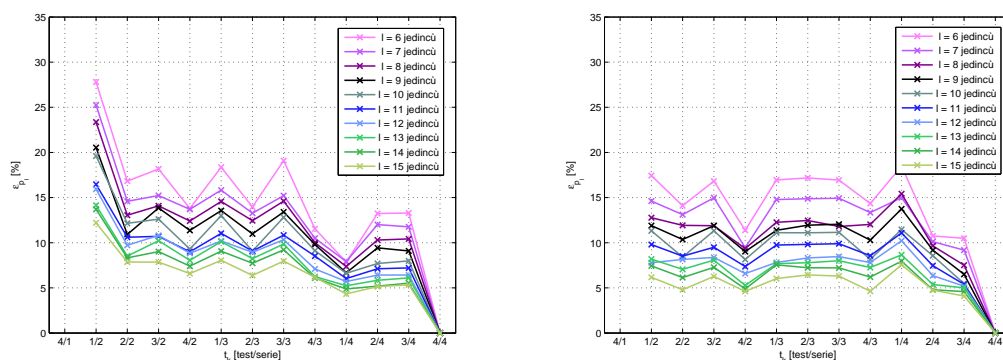
Obr. 6.25: Chyba metody hodnocení pravděpodobnosti úspěchu  $u$  testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

Na Obr. 6.25 je uveden průběh chyby metody hodnocení dle atributu úspěšnost  $u$  pro skupinu transplantovanou a kontrolní. Vzhledem k počtu dat v jednotlivých skupinách je chyba určena pro  $l = 6 \div 15$ . Obdobně je na Obr. 6.26 uveden průběh chyby měření.

V tabulkách 6.7 a 6.8 jsou na základě chyb  $\epsilon(t_k)$  a  $\varepsilon(t_k)$  určeny maximální hodnoty z testování na válci, tj. maximální hodnoty chyby metody a měření jednotlivých přístupů k analýze experimentu – pro úspěšnost  $p_{02}$ , pro hodnocení pomocí střední hodnoty  $\mu \pm \text{SEM}$  a statistické vzdálenosti distribučních funkcí dle  $D_p$  a  $W_d$  pro dané velikosti souborů  $l$ .

Vzhledem k tomu, že velikosti porovnávaných skupin nejsou stejné, lze ke zhodnocení citlivostní analýzy přistupovat dvěma způsoby - buď porovnávat chyby u stejně velkých





(a) chyba měření hodnocení pravděpodobnosti úspěchu testování na válci ve skupině s provedenou transplantací trénované na válci (b) chyba měření hodnocení pravděpodobnosti úspěchu testování na válci v kontrolní skupině trénované na válci

Obr. 6.26: Chyba měření hodnocení pravděpodobnosti úspěchu  $u$  testování na válci pro skupinu trénovanou na válci

TRÉNINK NA VÁLCI	max. chyba metody vyhodnocení [%]							
Válec - transplantace	6	7	8	9	10	11	12	13
$p_{02}$	14.9997	13.5237	12.7662	10.9800	10.5166	8.8614	8.5870	7.6502
$\mu \pm SEM$	3.6532	2.8308	2.6016	2.4782	2.2964	2.1588	2.0041	1.8624
$D_p$ , resp. $W_d$	8.5949	8.2700	7.2667	6.7695	6.3675	6.1568	5.7983	5.3999
	14	15						
$p_{02}$	7.3441	6.5676						
$\mu \pm SEM$	1.7203	1.5913						
$D_p$ , resp. $W_d$	4.7785	4.5268						
Válec - kontrola	6	7	8	9	10	11	12	13
$p_{02}$	13.0962	11.2519	10.7052	9.5652	8.5226	7.7527	7.2042	6.1396
$\mu \pm SEM$	4.1705	3.5088	2.8926	2.5422	2.0623	1.6158	1.2789	1.0028
$D_p$ , resp. $W_d$	10.0430	9.3687	8.5013	7.3783	7.0065	6.2661	5.7812	5.1221
	14	15						
$p_{02}$	5.6539	5.2881						
$\mu \pm SEM$	0.5681	0.5161						
$D_p$ , resp. $W_d$	4.3506	3.7606						

Tab. 6.7: Hodnoty maximálních chyb metody pro skupinu trénovanou na válci a s provedenou transplantací při měření testu na válci

souborů anebo u procentuálně stejných (velikosti výběru odpovídají určitému % celkové velikosti původního souboru).

Pro všechny motorické testy ve skupině trénované na válci při velikosti skupiny  $l = 6$ , což odpovídá 23% velikosti původního souboru pro skupinu s provedenou transplantací, je chyba metody v průměru 16.6031% pro úspěšnost, 4.3776% pro hodnocení dle  $\mu \pm SEM$  a 9.0959%

dle statistické vzdálenosti. Pro skupinu kontrolní, kde  $l = 6$  odpovídá 30% velikosti původního souboru, jsou hodnoty o něco nižší. Tyto odpovídají chybám pro skupinu s provedenou transplantací o velikosti  $l = 8$ , tj. 28.6% velikosti původního souboru. Pro porovnávání a závěry analýzy je proto vhodné využívat procentuálně stejně velké velikosti výběrů.

TRÉNINK NA VÁLCI	max. chyba měření vyhodnocení [%]							
Válec - transplantace	6	7	8	9	10	11	12	13
$p_{02}$	27.8116	25.2509	23.3599	20.5405	19.6060	16.4626	15.9387	14.1468
$\mu \pm SEM$	4.1566	3.0832	2.8938	2.5772	2.3860	2.2428	2.0811	1.9346
$D_p$ , resp. $W_d$	65.7430	62.5057	54.0936	53.8618	52.3203	51.8452	49.9433	49.8758
	14	15						
$p_{02}$	13.6979	12.2104						
$\mu \pm SEM$	1.7858	1.6519						
$D_p$ , resp. $W_d$	51.1433	52.7310						
Válec - kontrola	6	7	8	9	10	11	12	13
$p_{02}$	18.4816	14.9911	15.4143	13.7476	11.4658	11.0811	10.2175	8.6581
$\mu \pm SEM$	4.5418	3.8330	3.1743	2.7855	2.2553	1.7686	1.4008	1.0995
$D_p$ , resp. $W_d$	42.7820	41.7124	37.5661	33.9854	31.3922	28.6662	26.5420	23.6235
	14	15						
$p_{02}$	7.9612	7.5486						
$\mu \pm SEM$	0.6120	0.5639						
$D_p$ , resp. $W_d$	19.9384	17.4323						

Tab. 6.8: Hodnoty maximálních chyb měření pro skupinu trénovanou na válci a s provedenou transplantací při měření testu na válci

Zde je nutné zmínit, že nejmenší chyba metody pro hodnocení dle  $\mu \pm SEM$  je dána právě velikostí SEM, která je definována na základě velikosti směrodatné odchylky. Čím větší je směrodatná odchylka, tím větší je i hodnota SEM. V případě hodnocení jednou hodnotou, pouze za pomoci parametru  $\mu$  (bez využití informace SEM), již nejmenších odchylek dosahuje metoda vyhodnocení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ . Z Obr. 6.13 je zřejmé že interval  $\langle -SEM, SEM \rangle$  dosahuje hodnot až 10 s, což je 16.5% rozsahu měření. Pokud bychom tedy chtěli proces učení identifikovat co nejpřesněji, je vhodné spíše využít metodu vyhodnocení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ .

Podle očekávání chyba klesá se zvyšujícím se množstvím jedinců ve skupině. Největší chyba metody je při hodnocení procesu učení dle atributu úspěšnost  $u$ , nejmenší při hodnocení střední hodnotou dle vývoje atributu doba vstupu  $\tau$ .

U dalších dvou skupin dělených dle tréninku, tzn. trénované na válci a netrénované jsou výsledky obdobné.

Co se týče chyby měření, ta dosahuje daleko vyšších hodnot (viz Tab. 6.8). U každého motorického testu jsou největší odchylky dle metody jiné, obecně nejmenší je opět u vy-

hodnocení dle středních hodnot (za důvod lze stejně jako u chyb metod odhadnout využití SEM). Navíc jsou závislé na provedeném tréninku, ve skupině bez tréninku jsou chyby větší než u skupin trénovaných. Obecně se ale největších chyb měření lze dopustit při testování na hrazdě.

U kognitivního testování je pro tuto analýzu relativně malé množství dat, výsledky proto mohou být zavádějící. Výjimkou je skupina bez tréninku, pro kterou je např. ve skupině s provedenou transplantací 29 jedinců. Při velikosti skupiny  $l = 6$ , což odpovídá 21% velikosti původního souboru pro skupinu s provedenou transplantací, je chyba metody pro latenci v MWM 15.5152% pro úspěšnost, 1.9323% pro hodnocení dle  $\mu \pm SEM$  a 4.6915% dle statistické vzdálenosti. Ačkoliv hodnoty chyb jsou o něco nižší než u motorických testů, přesto se dá říci, že odpovídají výše uvedenému. Nejmenší chyby se opět vyskytují u hodnocení dle  $\mu \pm SEM$ . Chyba měření je též vyšší než chyba metody a závěry odpovídají závěrům motorického testování.

Konkrétní hodnoty chyb pro všechny testy jsou uvedeny na příloženém CD.

Záměrem uváděných chyb je především uvědomění si nedostatků při provádění experimentů. Při malém počtu jedinců je vhodné využívat hodnocení dle střední hodnoty atributu  $\tau$  či dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , současně s metodami testování hypotéz založenými na porovnávání hodnot atributu  $\tau$ . Při využití metody hodnocení atributu úspěšnosti  $u$  se lze dopustit až 20% chyby, proto tento způsob není na vyhodnocení procesu učení vhodný.

Pokud vyjdeme z předpokladu, že výsledky získané z 30-ti měření jsou statisticky významné, z určených chyb by se dalo odvodit, že v případě inbredních jedinců toto platí zhruba pro 20% velikost souboru, což by odpovídalo šesti jedincům (chyba je menší než 5%). Tento závěr je v souladu s odbornou literaturou.

Přesto v konkrétním uváděném příkladě mohou 2 jedinci s nestandardním chováním výrazně ovlivnit vyhodnocení experimentu (v případě měření 6 jedinců), ačkoliv tito 2 jsou jedinými extrémami z celkového počtu 26 jedinců pro skupinu s provedenou transplantací. Proto je nutné si být vědom, jak velkých chyb je možno se dopustit a použít vhodnou metodu vyhodnocování. Pro samotnou co nejpřesnější identifikaci procesu učení lze za nejvhodnější metodu označit vyhodnocení dle vývoje statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , atributu doba vstupu  $\tau$ . Při analýze dle  $\mu \pm SEM$  je zcela nezbytné přesně interpretovat hodnotu SEM, což bývá z pohledu odborníků problematické, viz [31] a [25].

### Důsledky nevhodné klasifikace dat

Aby byly výsledky provedeného experimentu dostatečně vypovídající, je dobré mít znalost, jestli námi testovanou hypotézu neovlivňují nějaké jiné faktory než ten zkoumaný. V pří-

padě demonstrativního experimentu zní hypotéza  $H_0$ : *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnově motorické koordinace a kognitivních schopností.* Tudíž námi zkoumaným faktorem je provedená transplantace. Zda je nutno klasifikovat získaná experimentální data jinak než dle sledovaného faktoru, tj. brát ohled na silnější faktory, lze zjistit na základě hodnoty klasifikačního kritéria  $J$ , viz vztah (5.40). Pokud  $J > 0.1$ , není nutno provádět jiné než požadované dělení souboru, charakteristiky náhodných veličin jsou dostatečně vypovídající.

Nejdříve je proto soubor rozdělen jen podle provedené transplantace a dle tohoto dělení je určena hodnota kritéria  $J$ . V Tab. 6.9 jsou uvedeny hodnoty kritéria pro jednotlivé provedené testy bez ohledu na vliv jiných faktorů a s ohledem na identifikovaný nejsilnější faktor - trénink, získaný na základě analýzy závislostí výstupů měření a citlivosti na jednotlivé faktory experimentu.

	$J_{\text{hrazda}}$	$J_{\text{žebřík}}$	$J_{\text{válec}}$	$J_{\text{MWM(latence)}}$	$J_{\text{MWM(střed)}}$	$J_{\text{open-field}}$
neděleno dle tréninku	0.0369	0.0314	0.0476	0.1604	0.3720	0.0956
trénink na válci	0.3117	0.3013	0.9447	0.5829	-	1.4581
trénink plaváním	0.2052	0.2418	1.8851	0.6021	1.1964	-
bez tréninku	0.2130	0.0052	0.0778	0.5081	0.1083	0.5811

Tab. 6.9: Hodnoty kritéria  $J$  pro klasifikaci naměřených dat pro atribut  $\tau$

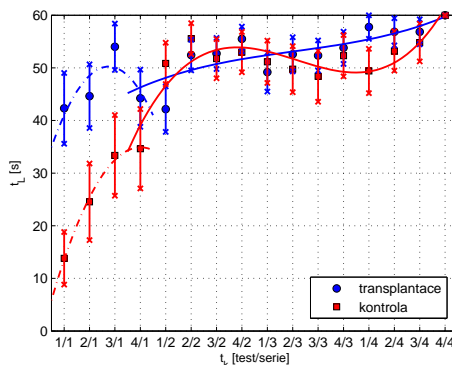
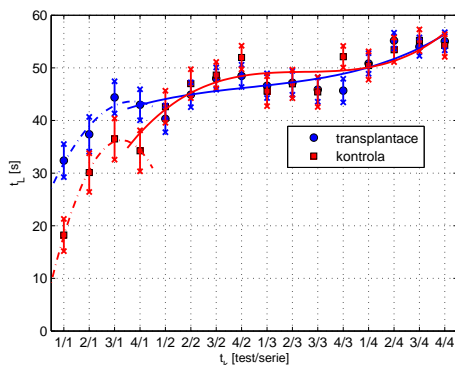
Hodnotu kritéria měření doby strávené ve středu bludiště pro skupinu trénovanou na válci nelze určit, jelikož pro skupinu tato doba měřena nebyla. Stejně tak test open-field pro skupinu trénovanou plaváním nebyl měřen ve skupině kontrolní. V případě využití standardních metod vyhodnocení nelze takto definované kritérium využít z důvodu velmi hrubé aproximace nabývání hodnot úspěšnosti  $u_p \in \{0, 0.25, 0.5, 0.75, 1\}$ .

Z velikostí kritéria  $J$  je zřejmé, že minimálně pro motorické testy je rozdělení dle tréninku nezbytné. Pro skupinu bez tréninku by podle výsledků bylo dále dobré hledat další vlivné faktory. Pokud by se po rozdělení souboru hodnoty kritéria příliš neměnily, dalo by se toto interpretovat tak, že dělení ztrácí smysl. Setrvávající malé hodnoty kritéria také značí, že proces učení je po celou dobu trvání experimentu mezi porovnávanými skupinami velmi podobný. Dělení by však mělo být konzistentní minimálně pro dané testy stejného typu, tudíž je nutno je hodnotit dohromady.

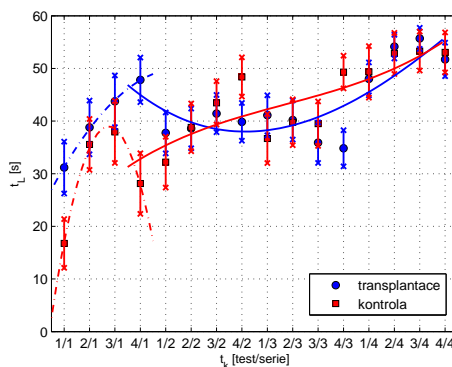
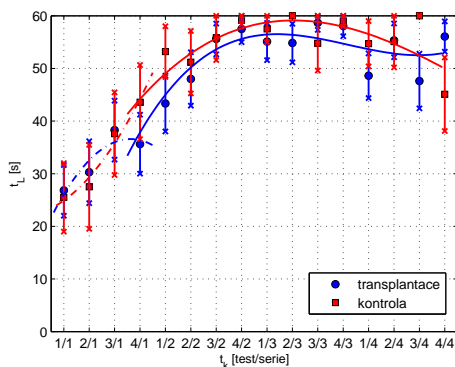
V případě kognitivního testu by dělení dle tréninku nutné nebylo, přesto lze říci, že rozdělení datového souboru získaného experimentu vyhodnocení neublíží.

Na Obr. 6.27 jsou pro varianty dělení uvedené v Tab. 6.9 vykresleny identifikované procesy učení pro test na válci ( $\mu \pm \text{SEM}$ ).

Pokud by klasifikace nebyla provedena správně, tzn. bez ohledu na provedený trénink, byla by hypotéza  $H_0$  o shodnosti schopností nesprávně přijata téměř od začátku experi-



(a) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování na válci ve skupině nedělené dle tréninku (b) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování na válci ve skupině trénované na válci



(c) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování na válci ve skupině trénované plaváním (d) průměr a chyba průměru  $t_L$  pro testování na válci ve skupině netrénované

Obr. 6.27: Průměr (odhad střední hodnoty) a chyba průměru při testování na válci pro skupinu nedělenou dle tréninku a skupiny dělené dle tréninku.

mentu. Navíc je zde v průměru velmi malý rozdíl ve schopnostech jedinců před provedením transplantace (apriori schopností), který je patrný především ve skupině trénované na válci a bez provedení tréninku.

Závěrem zdůrazněme, že při klasifikaci datového souboru pro vyhodnocení experimentu dle kritéria  $J$  je nutné brát ohled nejen na hodnotu kritéria, ale též i na počet jedinců ve skupině, aby nedošlo k problému s příliš velkou rozdrobeností dat. Klasifikace by tedy měla být prováděna i s ohledem na počet jedinců v hodnocených skupinách (vliv množství jedinců je uveden v předchozí části této kapitoly).

## 6.4 Zhodnocení provedených analýz ukázkového experimentu

Zhodnocení analýz experimentu je rozděleno na dvě části. První se zabývá především využitím nových metod při vyhodnocení, druhá zodpovězením otázek formulovaných v kapitole 2.3 souvisejících s tímto experimentem. V této kapitole se budou opakovat věci, které již byly v práci řečeny, tato část je zde uvedena pro přehlednost a ucelení závěrů provedených analýz.

### 6.4.1 Shrnutí a závěry provedených standardních i inovativních analýz

Závěrečné zhodnocení provedených analýz je zaměřeno na výsledky analýz, přínosy a nedostatky navržených metod a metodik, tzn. na témata, na které je tato práce zaměřena a ne na samotné výsledky experimentu. Závěry jsou uváděny ve stejném pořadí, jako jsou jednotlivé analýzy prezentovány v předchozí kapitole. Nejdříve je pro připomenutí popsán standardní způsob vyhodnocení provedených testování (viz kapitola 6.2), poté jsou popsány a zhodnoceny nevyužívané metody biologické statistiky (viz část 6.3.1), nové metody pro analýzu experimentu při volbě aproximace empirických dat normálním rozdělením (viz část 6.3.2), nové metody při volbě dalších aproximací (viz část 6.3.3) a na závěr analýza chyb souvisejících s metodikou experimentu (viz část 6.3.4).

**Standardně** je v uváděném experimentu u motorických testů zkoumaným atributem procentuální úspěšnost, získaná z měření doby setrvání na náradí v každé sérii testů (kvantování úspěšnosti). Pro porovnávání výsledků měření je využit Mann-Whitneyho U test. Při kognitivním testu v MWM je vyhodnocován především okamžik nalezení ostrůvku pomocí analýzy rozptylu. Stejnými metodami je hodnocen test v open-fieldu, kde je vyhodnocována ušlá dráha v centimetrech. Proces učení je určován pomocí střední hodnoty a chyby průměru. Epilepsie vyhodnocována není, je považována za ovlivňující faktor experimentu.

Na základě apriori znalosti odborníků jsou měření dělena na skupiny dle provedené transplantace mozečku u trénovaných a netrénovaných myší, aby bylo možné prokázat či vyvrátit hypotézu  $H_0$ , že při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnovení motorické koordinace a kognitivních schopností. Analýzy byly prováděny s ohledem na to, jaké informace může vyhodnocení experimentu přinést odborníkům a jakých chyb či odchylek se mohou dopustit. V uvedené demonstraci nejsou tedy předloženy jen změny související s prokazováním hypotézy  $H_0$ , ale i další možné přístupy získávání informací z měřeného experimentu (pro komplexní vyhodnocení experimentu a procesu učení).

Inovací v metodickém postupu vyhodnocení při využití dalších metod biologické statistiky je **analýza závislostí výstupů měření a citlivosti na jednotlivé faktory experimentu**. Konkrétně se jedná o korelační analýzu a o využití analýzy rozptylu pro zhodnocení

vlivu faktorů. Tyto dvě metody je vhodné provádět jako první kroky při analýze výstupů experimentů. Pro interpretaci výsledků přitom nezávisí na dále použité volbě rozdělení pro aproximaci empirických dat.

Samotné hodnoty korelačních koeficientů nemohou podat informace o neurálních procesech, ale podají informace o nutných vyhodnocovacích atributech a počtu vyhodnocovaných testů. V případě motorického testování s ohledem na časovou prodlevu mezi jednotlivými sériemi je nutné vyhodnocovat všechny testy experimentu. Vzhledem k hodnotám korelačního koeficientu získaných pro jednotlivé metody testování motorických schopností (test na hrazdě, žebříku a válci) je vhodné vyhodnocovat měření na všech testovaných nářadích. Pro kognitivní test by mělo být dostačující provedení šesti testů. Z pohledu vyhodnocovaných výstupů pro zhodnocení procesu učení během testování nalezení ostrůvku v MWM se ukázala samotná latence plně dostačující.

Vzájemný vztah mezi různými metodami testování (např. motorickými a kognitivními testy či open-field) realizovanými během jednoho experimentu nelze pomocí korelační analýzy korektně porovnat. Vzhledem k nejednotnosti doby trvání jednotlivých testování i samotných testů by problémem mohla být správná interpretace výsledků.

Analýza citlivosti na faktory má sloužit k tomu, aby interpretace výsledků byla co nejpřesnější a aby se odborník nedopustil zbytečných chyb při vyhodnocování. Pokud bude analýzou určen faktor se statisticky výrazným vlivem na výsledky měření, je vždy nutné toto brát při vyhodnocování experimentu v úvahu. Závěry z analýzy citlivosti pro určení vlivu faktorů jsou takové, že pro motorické a kognitivní testování je nejvýznamnějším faktorem trénink. U motorického testování je kromě tréninku vliv ostatních faktorů srovnatelný. Na kognitivní schopnosti má významný vliv též epileptická reakce. Pro open-field test je nejvýznamnějším faktorem úspěšnost transplantace a epileptická reakce. Do jaké úrovně (dle vlivu faktorů) je potřeba rozdělit testované jedince do skupin je závěrem analýzy klasifikace dat. Výsledky analýz částečně odpovídají expertnímu odhadu odborníků, tj. vyhodnocení jsou standardně prováděna ve skupinách dělených prioritně dle tréninku a dle provedení transplantace.

Výsledky měření napovídají o nevyváženosti dat především u motorických testů. Z těchto důvodů je nejspíš standardně využíváno hodnocení procentuální úspěšnosti provedených testů v jednotlivých sériích. Přesto k zachování dynamiky procesu učení během jednotlivých sérií je možným, a v tomto případě běžně nepoužívaným, přístupem pro vyhodnocení experimentů využití metod biologické statistiky pro interpretaci výsledků nevyvážených dat. Jako vhodné se jeví **využití metod méně citlivých na odchylky od normality** - např. kvantilové informace, včetně určení možných extrémů a odlehlých hodnot, a to ve všech časových okamžicích  $t_k$  experimentu. První významnější inovací je tedy vyhodnocení experimentu ve všech časových okamžicích  $t_k$  samostatně. V případě motorických testů se jedná o přístup nový, nejedná se o kvantování a průměrování v jednotlivých sériích.

Vyhodnocení procesu učení je provedeno na základě vyhodnocení atributu úspěšnost (včetně získání informace o informačním přínosu jednotlivých testů), poté pomocí standardních i nově navržených metod na základě hodnocení atributu latence, tj. dle střední hodnoty, chyby průměru a směrodatné odchylky či využití metod vyhodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné.

Platnost hypotézy  $H_0$  je nejprve **hodnocena pomocí atributu úspěšnost** definovaného jako  $p_{01} = P[X < 60]$  pro testování kognitivní a  $p_{02} = 1 - P[X < 60]$  pro testování motorické. Podle hypotézy  $H_0$  má po určitém čase dosahovat skupina transplantovaných obdobných výsledků jako skupina kontrolní. Hypotézu  $H_0$  můžeme potvrdit či vyvrátit na základě vzdáleností, resp. odchylek, procesu učení identifikovaného na základě hodnot atributu úspěšnost v čase  $t_k$  pro všechny časové údaje provedeného experimentu. Pokud jsou na začátku testování schopnosti uváděných dvou skupin značně rozdílné, tak je pro potvrzení hypotézy  $H_0$  nutné, aby se skupina transplantovaná učila rychleji než skupina kontrolní. Proto je uvedeno vyhodnocení experimentu *z pohledu vydatnosti učení*.

Při samotném využití vyhodnocení pomocí atributu úspěšnost však oproti standardnímu přístupu není možné využít pro testování platnosti hypotézy  $H_0$  statistické testy (např. Mann-Whitney U test či ANOVA). Celá skupina je totiž popsána jednou celkovou hodnotou  $p_{02}$ , resp.  $p_{01}$ . Systém definující proces učení je popsán souborem atributů  $y_k$ , který přísluší časovému okamžiku  $t_k \in T$  a soubor atributů je dán jako  $y_k = [u_k, \tau_k]$ . V tomto případě je pak hodnocena úspěšnost i doba setrvání na náradí či doba nalezení ostrůvku, pro kterou je již možné pro testování platnosti hypotézy  $H_0$  statistické testy použít.

Na základě atributu úspěšnost je též možné určit *informační přínos testů*. Z hlediska vyhodnocení experimentu podává informaci, kdy je ještě potřeba provádět další testy v rámci experimentu a kdy už je přínos dalšího testu minimální. Informační přínos odpovídá rozdílu míry informace  $I$  ve dvou po sobě následujících testech tj, v časech  $t_k$  a  $t_{k-1}$ . Tzn. že záporná hodnota značí, že míra informace v čase  $t_k$  je menší než v čase  $(t_{k-1})$ . Bohužel vzhledem k nedostatečně mohutnému souboru dat a diverzitě schopností jedinců lze vyvodit pouze to, že tento údaj není v případě motorického, ani kognitivního testování nijak vypovídající. Hodnoty informačního přínosu v průběhu experimentu neklesají, jak bychom požadovali pro vyvození závěrů ohledně potřebného počtu dat, ale oscilují kolem nuly.

**Vyhodnocení procesu učení za využití atributu  $\tau$**  (latence) definujícího časové rozložení opuštění počátečního stavu všech jedinců ve skupině je nejprve provedeno za pomoci průměru (odhadu střední hodnoty) a chyby průměru. Analýza je provedena analogicky k analýze atributu úspěšnost. Též se zabývá *i vydatností učení* – tentokrát z pohledu veličiny  $t_L$ , která je normovaná podle limitního času  $t_{lim}$  dle metodiky experimentu. Při většině testů se hodnoty  $\mu \pm SEM$  překrývají a tudíž se tímto vyhodnocením jeví, že ihned po transplantaci dosahuje transplantační skupina stejných výsledků jako skupina kontrolní. Na druhou stranu,



tato metoda přináší přesnější informaci o vydatnosti učení, tím pádem i o jeho *kvalitě*. Obdobné je to i při vyhodnocení za využití  $\mu \pm \sigma$ .

Na tomto místě je vhodné připomenout, že standardně se motorický test vyhodnocuje za pomoci rovnoměrného diskrétního rozdělení, resp. kvantování úspěšnosti, tzn. v tomto případě vůbec není vyhodnocena náhodná veličina  $\tau$ . Tímto se ztrácí množství informací. Avšak využitím momentů pro vyhodnocení se neztrácí tolik informace jako u běžně užívaného kvantování. Pokud by v případě tohoto experimentu bylo použito k vyhodnocení měření během experimentu odhadů parametrů normálního rozdělení pro popis  $\tau$ , získali by odborníci více informací.

U kognitivního testování tato analýza přináší k analýze dle atributu úspěšnost další informace. Z hlediska této analýzy a vyhodnocení hypotézy  $H_0$  by bylo vhodné ještě provedení dalších testů. Tento závěr se zdá být v rozporu se závěrem korelační analýzy, že by mělo být dostačující provedení šesti testů. Přesto není. Pokud by se učení zvyšovalo s uvedenou korelací, po určitém počtu testů by jedinci dosáhli stejných výsledků.

V tomto případě lze využít i standardní statistické testy (např. Mann-Whitney U test, t-test či ANOVA pro  $t_L$ ), pro motorické testy však samostatně pro jednotlivé testy v sérii. Posouzení přijetí či zamítnutí hypotézy  $H_0$  je na základě kombinace uvedených přístupů a získaných částečných výsledků na samotném odborníkovi, stejně jako u standardního způsobu vyhodnocení.

Jak již bylo zmíněno, základní nevýhodou uvedeného přístupu je nedostatečně vypovídající schopnost vyhodnocení z důvodu překrývání intervalů  $\mu_{t_L} \pm SEM_{t_L}$  a ovlivnění hodnot parametrů časovou limitací experimentu. Na druhou stranu hlavní výhodou je interpretovatelnost výsledků ze strany odborníka.

Jako další metoda pro vyhodnocení procesu učení bylo navrženo využití aproximací distribuční funkce  $F_X(t_L)$ , resp.  $F_X^{-1}(z)$ , která je v analýzách aproximována **nejprve normálním rozdělením**. V následujících analýzách je aproximována dalšími vybranými rozděleními (konkrétně exponenciálním, Weibullovým a Coxovo fázovým).

Z hlediska potvrzení či zamítnutí hypotézy  $H_0$  je důležitý vývoj vzdáleností mezi jednotlivými distribučními funkcemi porovnávaných skupin ve všech časových okamžicích experimentu. Je tedy provedena **analýza na základě hodnocení v pravděpodobnosti**  $D_p(F_k, F_{ref})$  a **hodnocení v jednotkách náhodné proměnné**  $W_d(F_k, F_{ref})$ . Normovaná hodnota  $W_d(\cdot)$  udává v případě motorického testu prodloužení doby pádu z nářadí a v případě kognitivního testu zkrácení doby nalezení ostrůvku od hodnoty referenční (apriori),  $D_p(\cdot)$  značí nárůst pravděpodobnosti dosažení limitní hodnoty experimentu pro test motorický či okamžitého nalezení ostrůvku v případě testu kognitivního.

Za referenční  $F_{ref}(t_L)$ , resp.  $F_{ref}^{-1}(z)$ , je v případě motorického testu považována dis-

tribuční funkce, resp. inverzní distribuční funkce, získaná z mediánů schopností jednotlivých jedinců z testů provedených před transplantací (apriori informace). V případě testu v MWM je za referenční považován první provedený test, jelikož žádná apriori informace ohledně kognitivního testování není k dispozici. U motorického testování by bylo možné využít aproximace jednotlivých měření první série, tj. vztahovat výpočet statistické vzdálenosti ke konkrétnímu  $x/1$ . V případě jakéhokoliv „výjimečného“ testu by však mohly být výsledky zkresleny. Proto je vhodné použít jako referenční funkci takovou, která vystihuje celý předchozí stav schopností jedinců.

Stejně jako v předchozích případech se lze zaměřit na *vydatnost učení* získanou z velikostí statistické vzdálenosti. Z definice mír  $W_d(\cdot)$  a  $D_p(\cdot)$  je plocha stejná a tudíž i vydatnost učení je pro obě dvě metody stejná (nevychází se z empirických dat, ale z aproximace normálním rozdělením). Vzhledem k tomu, že se jedná o velikost plochy, je nutné zavedení *parametru učení-zapomínání*  $g$ .

Dle výsledků analýzy uvedenou metodou můžeme zjistit, jakým způsobem se proces učení vyvíjí, tj. o kolik sekund či o kolik procent se mění jejich výsledky. Z vydatnosti učení též zjistíme, zda se skupiny učí rychleji dle předpokladů či nikoliv. Výhodou tohoto přístupu je, že potvrzování hypotézy  $H_0$  je nezávislé na rozdílu schopností mezi jednotlivými skupinami na začátku experimentu (apriori informace). Nevýhodou je nutnost využití apriori informace. Stejně jako v případě vyhodnocení experimentu dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$  lze i zde pro podporu přijetí/zamítnutí hypotézy  $H_0$  odborníkem použít standardní statistické testy, jelikož přístup vychází také z hodnot atributu  $\tau$ .

Dosud zmíněné analýzy atributu  $\tau$  vycházely z aproximace této veličiny normálním rozdělením. Pro následná vyhodnocení byla vybrána **tři další rozdělení, a to exponenciální, Weibullovo a Coxovo fázové rozdělení**, především z důvodu časté využitelnosti při řešení kybernetických a biokybernetických úloh. Cílem bylo určit, zda je pro aproximaci naměřených empirických dat možné nalézt vhodnější rozdělení než rozdělení normální. K odhadu parametrů rozdělení byl využit softwarový nástroj MATLAB, pro odhad parametrů Coxova fázového rozdělení byla využita metoda vyvinutá na Katedře kybernetiky ZČU. Vzdálenost vybraných aproximací danými rozděleními byla určována pomocí metody hodnocení v pravděpodobnosti (v  $L_2$ ) a vhodná aproximace byla volena dle minima kritériální funkce  $\frac{1}{t_k} \sum D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$ .

Pro motorické testy byla vyhodnocena jako vhodná aproximace normálním rozdělením pro test na válci, v případě testu na hrazdě a žebříku Coxovým fázovým rozdělením (díky větší rozprostřenosti dat); pro kognitivní test aproximace rozdělením Weibullovým. V případě experimentů prováděných v MWM daleko více než u testů motorických záleží na rozložení výsledků měření, tj. tvaru  $\tau_k$  vyhodnocované skupiny. Exponenciální rozdělení se ukázalo jako zcela nevhodné pro obě testovací metody. Pro test open-field je odchylka empirických

dat srovnatelná pro aproximaci rozdělení Weibullovým a normálním.

Proces učení je možno popsat i pomocí *samotných parametrů daných rozdělení*, interpretace výsledků experimentu za jejich využití je však složitější. Bez ohledu na typ rozdělení je možné je popsat **pomocí odhadu momentů** (střední hodnoty a směrodatné odchylky). Vzhledem k tomu, že identifikace parametrů jednotlivých použitých rozdělení probíhá pomocí moment-matching, pak odchylky vyhodnocení experimentu za využití vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\tau$  dle zvolené aproximace jsou téměř nulové, což bylo ověřeno, a analýza experimentu za využití této metody vyhodnocení zcela odpovídají výsledkům pro užívanou aproximaci normálním rozdělení.

Pro všechny uvedené aproximace byla stejně jako pro normální rozdělení provedena **analýza experimentu dle vývoje statistické vzdálenosti  $W_d$  a  $D_p$** . Vyhodnocení procesu učení za využití  $D_p/W_d$  se odvíjí od vhodnosti využití aproximace. Informace o procesu učení získaná při využití nevhodné aproximace může být nesprávná. Z provedené analýzy je patrný vliv odchylky referenčních distribučních funkcí od empirické distribuční funkce.

Přístup, kde se lze dopustit nejmenší chyby, je analýza experimentu dle statistické vzdálenosti při využití nejvhodnější aproximace pro každé jednotlivé měření, což však znamená využití nejednotné aproximace pro celý provedený test. Z hlediska potvrzení či zamítnutí hypotézy  $H_0$  je důležitý vývoj vzdáleností mezi jednotlivými distribučními funkcemi porovnávaných skupin ve všech časových okamžicích experimentu, proto vhodnější aproximace empirických dat je pouze přínosem k vyhodnocení. Výsledný získaný proces učení je poté mnohem kvalitnější než při zvolení jednoho konkrétního rozdělení pro aproximaci empirických dat. Problémem takového přístupu je však především náročnější metodika při určování nejvhodnější aproximace pro každé provedené měření a náročnost identifikace parametrů daných rozdělení, především Coxova fázového.

Metoda analýzy pomocí statistické vzdálenosti může být využita přímo za využití empirických distribučních funkcí, ale vzhledem k častému malému počtu dat a metodickému omezení experimentu je zvolená vhodná aproximace pro interpretaci výsledků vhodnější.

Výše zmíněné metody značí možné způsoby vyhodnocení dat. Další analýzy jsou zaměřeny na **možné chyby způsobené nevhodným způsobem měření a vyhodnocení experimentu** související s předchozími uvedenými metodami vyhodnocení. Jedná se především o stanovení odchylek vyplývajících z nevyužití apriori informace, odchylek způsobených změnou velikosti datového souboru, chyb měření a metod a důsledky nevhodné klasifikace dat.

První analýza chyb je zaměřena na **využití/nevyužití apriori informace**. Výpočet odchylky  $O_{apriori}$  je založen na variantě identifikace apriori procesu učení, pouze v případě

hodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné na variantě získání apriori informace z mediánů schopností jednotlivých jedinců. Aby bylo možné odchylky porovnávat, jsou určeny normované hodnoty těchto odchylek. Pro kognitivní test nelze  $O_{apriori}$  určit, neboť informace o schopnostech před provedením transplantace nejsou k dispozici.

Z vyhodnocení lze odvodit, že v případě nevyužití apriori informace je v tomto případě vhodnější variantou definovat proces učení na základě využití vyhodnocení pomocí parametrů normálního rozdělení doby, ačkoliv zrovna u těchto je standardem vyhodnocení úspěšnosti, nebo nejlépe v kombinaci s hodnocením úspěšnosti. Nejvíce se rozdíl projeví při využití metod hodnocení statistické vzdálenosti distribučních funkcí jednotlivých měření, což vychází ze samotné definice této metody, která je na apriori znalosti schopností závislá. Bylo prokázáno, že pro vyhodnocení metodou statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , je apriori znalost schopností jedinců nezbytná.

Analýza vlivu apriori informace je omezena na jedince, u kterých bylo provedeno testování před provedením transplantace. Analýzu by bylo možno rozšířit na neměřené jedince, ale jelikož se jedná o inbrední kmen myší, jsou uvedené závěry vypovídající.

Dále byla provedena **citlivostní analýza na množství dat**. V případě inbredních jedinců lze vyvodit, že statisticky významné výsledky lze získat za využití již šesti jedinců.

Též byly určeny *chyby měření a metody* v každém časovém okamžiku  $t_k$ . Podle očekávání chyby klesají se zvyšujícím se množstvím jedinců ve skupině. Největší chyba metody se vyskytuje při hodnocení procesu učení dle atributu úspěšnost  $u$ , nejmenší při hodnocení střední hodnotou dle vývoje atributu doba vstupu  $\tau$ . Při využití metody hodnocení atributu úspěšnosti  $u$  se lze dopustit až 20% chyby, metoda je tedy silně závislá na počtu testovaných jedinců. Nejmenší chyba metody pro hodnocení dle  $\mu \pm SEM$  je dána velikostí SEM definované pomocí směrodatné odchylky. Čím větší je směrodatná odchylka, tím větší je i hodnota SEM. V případě hodnocení pomocí samotného  $\mu$  již nejmenších odchylek dosahuje metoda vyhodnocení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ . Pokud bychom tedy chtěli proces učení identifikovat co nejpřesněji, je vhodné spíše využít metodu vyhodnocení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ . Při analýze dle  $\mu \pm SEM$  je zcela nezbytné přesně interpretovat hodnotu SEM! (což bývá z pohledu odborníků problematické)

Co se týče chyby měření, ta dosahuje daleko vyšších hodnot. U každého testu jsou velikosti odchylek závislé na metodě testování a na provedeném tréninku. Obecně nejmenší jsou opět u vyhodnocení dle středních hodnot (za důvod lze stejně jako u chyb metod odhadnout využití SEM).

Při malém počtu jedinců je proto vhodné využívat hodnocení dle střední hodnoty atributu  $\tau$  (se správnou interpretací SEM) či dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , současně s metodami testování hypotéz založenými na porovnávání hodnot atributu  $\tau$ .

V neposlední řadě byla provedena **analýza související s klasifikací dat**. Je důležité si být jist, zda testovanou hypotézu neovlivňují nějaké jiné faktory než ten zkoumaný. V případě demonstrativního experimentu jím byla provedená transplantace. Na základě hodnoty klasifikačního kritéria  $J$  lze zjistit, zda jsou charakteristiky sledovaných náhodných veličin dostatečně vypovídající.

Pokud po rozdělení souboru dle zkoumaného faktoru nabývá kritérium  $J > 0.1$ , není nutno provádět jiné než požadované dělení souboru. V případě, že tomu tak není, je nutné při klasifikaci dat zohlednit faktor/faktory jiné. Postupné zahrnování faktorů při postupné klasifikaci by se mělo odvíjet od síly vlivu faktorů, získané dříve provedenou analýzou faktorů, tzn. první vzít v úvahu faktor s nejsilnějším vlivem. Pokud by se po rozdělení souboru hodnoty kritéria příliš neměnily, dalo by se toto interpretovat tak, že dělení ztrácí smysl. Setrvávající malé hodnoty kritéria také značí, že proces učení je po celou dobu trvání experimentu mezi porovnávanými skupinami velmi podobný.

Dělení by však mělo být konzistentní minimálně pro dané testy stejného typu, tudíž je nutno je hodnotit závisle. Klasifikace by též měla být prováděna s ohledem na počet jedinců v hodnocených skupinách. Při klasifikaci je nutné zohlednit oboje zmíněné, tak aby nedošlo k problému s příliš velkou rozdrobeností dat.

#### 6.4.2 Odpovědi na předem formulované otázky

Z provedených analýz na tomto konkrétním experimentu je možno odpovědět na předem formulované otázky č. z kapitoly 2.3. Vybrány jsou pouze takové, na které je možné z těchto dat jednoznačně odpovědět.

- *Jaký je vzájemný vztah procesu učení a excitability CNS?*  
Excitabilita CNS, reprezentovaná epileptickou reakcí, nemá významný vliv na motorické schopnosti jedinců, ale má významný vliv na schopnosti kognitivní.
- *Jak je charakterizován proces učení typem kmene, druhem poruchy a pohlavím při daném experimentu?*  
V tomto případě se jedná o jedince jednoho kmene (inbrední C57BL/6) bez definování genetické poruchy. Je tedy možné zhodnotit pouze vliv pohlaví. Pohlaví nemá vliv na kognitivní schopnosti jedinců, ale v některých případech může mít vliv na motorické schopnosti (především při testování na válci).
- *Jaký je vztah celkových motorických schopností k výsledkům jednotlivých metod testování? Jaká metoda je nejvíce vypovídající?*  
Vývoj motorických schopností se nejvíce projevují při testování na válci. Toto však může být dáno metodikou experimentu, kdy test na válci je prováděn jako poslední

motorická test. Vzhledem k malým korelacím mezi testováním na různých pořadích, nelze určit jednu metodu jako nejvíce vypovídající.

- *Je pro vyhodnocení motorických schopností jedinců dostatečně vypovídající jedna provedená série testů (4x za sebou)?*

Není. Je potřeba provedení minimálně jednoho testu před ovlivněním. Dalo by se říci, že dle dané metodiky by mohlo stačit provedení dvou dalších sérií pro vyhodnocení procesu učení, ale pokud je hodnocen každý test samostatně. Přesto se v některých případech jedinci ve třetím testu po ovlivnění stále učí. Metodika experimentu, tj. provedení 1 testu před ovlivněním a 3 testů po něm, je tedy z pohledu vyhodnocení procesu motorického učení správná.

- *Jak ovlivňují proces učení počáteční podmínky experimentu a využití apriori informace?*  
Změna počátečních podmínek má výrazný vliv - za změnu považujeme provedení trénink, jedná se o nejsilnější faktor. Využití apriori informace lze vyhodnotit jen pro motorické testování. Apriori informace má důležitý vliv, avšak jeho důležitost je dána využitou metodou vyhodnocení procesu učení.

- *Jsou vhodně zvoleny (resp. dostatečně vypovídající) vyhodnocovací metody? Jak moc vypovídá daná metoda vyhodnocení o procesu učení?*

V tomto případě se nejdříve zmíníme o vyhodnocovaných veličinách. Pro vyhodnocení kognitivního testu je vyhodnocení latence postačující, ze všech měřených veličin nejvíce vypovídá o procesu učení. Jako doplňkové může sloužit vyhodnocení rychlosti plavání. Vyhodnocovací metody využívané při kognitivním testování (za využití střední hodnoty a chyby průměru) lze označit za vypovídající, ale je nutno získané výsledky správně interpretovat (minimálně chybu průměru SEM). Z důvodu překrývání intervalů však nejsou pro vyhodnocení procesu učení zcela vhodné. V případě motorického testování musí být každá testovací metoda vyhodnocována samostatně. Vyhodnocení procentuální úspěšnosti (kvantování úspěšnosti) velice omezené a nedostatečně vypovídající.

- *Jaký informační přínos má každý následující test daného experimentu?*

Informační přínos je výraznější u učení kognitivního, především v prvních dnech experimentu. U testování motorického nelze z určených informačních přínosů vyvodit žádné závěry.

- *Jak se vyvíjejí závislosti (i v čase) při využití různých testovacích metod, je možné mluvit o kauzalitě?*

Závislosti testovacích metod pro testování motorických schopností se nemění a korelační koeficient dosahuje velmi malých hodnot. O kauzalitě lze mluvit maximálně

v rámci jednotlivých sérií. U kognitivního testování v bludišti o kauzalitě mluvit jde, pro kognitivní test by pak mělo být dostačující provedení šesti testů.

- *Jaké nové informace nám přinese analýza chyb?*

Pro správné vyhodnocení procesu učení a ověřování hypotézy  $H_0$  je vhodné využít apriori informaci. V případě nevyužití apriori informace je možné definovat proces učení na základě využití vyhodnocení pomocí parametrů normálního rozdělení doby (nejlépe v kombinaci s hodnocením úspěšnosti). Pro samotnou co nejpřesnější identifikaci procesu učení je dobré využít vyhodnocení metodou statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , pro které je apriori znalost schopností jedinců nezbytná.

Chyby metody vyhodnocení a chyby měření klesají se zvyšujícím se množstvím jedinců ve skupině. Největší chyba metody se vyskytuje při hodnocení procesu učení dle atributu úspěšnost  $u$ , nejmenší při hodnocení střední hodnotou dle vývoje atributu doba vstupu  $\tau$  (dáno velikostí intervalu definovaného pomocí SEM). V případě hodnocení pomocí samotného  $\mu$  již nejmenších odchylek dosahuje metoda vyhodnocení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , která nejpřesněji popisuje proces učení. Velikosti odchylek měření závislé na metodě testování a na provedeném tréninku. Při malém počtu jedinců je vhodné využívat hodnocení dle střední hodnoty atributu  $\tau$  (se správnou interpretací (SEM) či dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , současně s metodami testování hypotéz založenými na porovnávání hodnot atributu  $\tau$ .

Klasifikace dat do skupin, které mají být porovnávány, by měla vycházet ze síly vlivu jednotlivých faktorů s ohledem na testovanou hypotézu  $H_0$  a být prováděna s ohledem na počet jedinců v hodnocených skupinách.

- *Jsou experimenty prováděny na dostatečně hutném vzorku zvířecích jedinců?*

Bylo prokázáno, že u testovaného inbredního kmene pro získání statisticky významných výsledků je dostačujících 6 jedinců v porovnávaných skupinách.

- *Jakých se při pokusu dopouštíme kvalitativních chyb?*

Chyb souvisejících s kvalitou měření a vyhodnocení experimentu je několik. Při standardním vyhodnocení se jedná o nedostatečné využití apriori informace, nesprávnou interpretaci chyby (SEM) a v některých případech využití nevhodné aproximace (systematické zanášení větších odchylek). U vyhodnocování procesu učení u motorického testování jde pak o nevhodné využití metody kvantování úspěšnosti, tj. nezahrnutí dynamiky učení v dané sérii testů (nezanesení informace o zlepšování/zhoršování schopností v rámci série).

## 7 Zhodnocení analyzovaných experimentů

V této kapitole je provedeno závěrečné zhodnocení vycházející ze všech analýz provedených pro dostupné experimenty a zodpovězeny otázky formulované v kapitole 2.3. Podrobný popis metodik jednotlivých experimentů je uveden v příloze A. Závěry jsou uváděny s ohledem na téma práce, proto zde již standardní vyhodnocení uváděno není. Konkrétní výsledky analýz pro každý experiment jsou uvedeny na přiloženém CD.

Závěry lze rozdělit na několik částí. První oblastí je *zhodnocení samotné metodiky měření a provádění experimentů*. Na LF UK je velká část výzkumu neurodegenerativních chorob zaměřena na vliv transplantace embryonální tkáně mozečku či embryonálních kmenových buněk na kognitivní a motorické schopnosti inbredních kmenů myší. V případě experimentů testujících hypotézy související s vlivem transplantace jsou motorické testy prováděny do 10. týdne po provedení transplantace. Pro hodnocení procesu učení souvisejícího s motorickými schopnostmi je tato doba dostačující, pro hodnocení motoriky po transplantaci je potřeba provedení minimálně 4 sérií testování, z nichž minimálně jedno by mělo proběhnout před provedením transplantace a jedno v 10. týdnu po operaci.

Na základě provedených analýz procesu učení lze konstatovat, že je důležité provedení testování v 7. či 8. týdnu po operaci, které z pohledu procesu učení lze označit za kritické (toto odpovídá i výsledkům demonstrativního testu, kdy v 8. týdnu je provedena třetí série testů). Proces učení lze velice přesně popsat na základě měření v 2., 4., 6., 8. a 10. týdnu po operaci a je vhodné jej vyhodnocovat pro každou testovací metodu a každé měření zvlášť. Toto platí obecně pro motorické testování, jelikož dochází k učení i v průběhu jednotlivých sérií. Samotná jedna série může podat velmi hrubou informaci o motorických schopnostech, ale rozhodně ne o procesu učení.

Při kognitivním testování v MWM je pro popis procesu učení samotný výstup latence dostačující. Rychlost plavání a velikost uplavané dráhy není nutno hodnotit, pokud na těchto veličinách z principu experimentu nezáleží. Jako doplňkový výstup je lepší využít rychlost plavání. Z hlediska odborníků jsou někdy zaznamenávány i další údaje, jako např. doba strávená ve středu bludiště, které mohou sloužit jako doplňující informace o chování jedinců pro expertní závěry testování hypotéz. Pro popis procesu učení a vyhodnocování hypotéz je dostačujících 6 testovacích dnů. V případě změny počátečních podmínek je vhodné testování provádět minimálně 2, nejlépe 4, následující dny, pokud se nejedná o probe trial (chybí ostrůvek, měřena doba v definovaném kvadrantu).

V současnosti jsou na LF měření testování v MWM zaznamenávána systémem Ethovision, tzn. je zaznamenávána průměrná hodnota 4 provedených startů. Některé experimenty byly zaznamenávány jednotlivě pro každý start. U těchto experimentů byla provedena analýza nalezení ostrůvku dle jednotlivých startovních pozic (např. pro experiment Vliv podávání SCH 23390 na prostorové učení). Oproti motorickým testům lze říci, je průměrná hodnota je



z pohledu procesu učení vypovídající. Nezáleží pak na pozici ostrůvku, resp. vzdálenosti od startovací pozice (především při změně startovacích pozic). Sice dojde k zanedbání informace o tom, ze kterých startovních pozic jedinec ostrůvek našel a ze kterých ne, nejčastěji to však odpovídá startovacím pozicím nejbližší ostrůvku).

U behaviorálních testů záleží především na testované hypotéze, pro test open-field nejčastěji pro vyhodnocení stačí ušlá dráha za metodicky danou dobu. Je vhodné provést několik testů, resp. minimálně jeden před provedeným ovlivněním a jeden poté (např. po provedené transplantaci).

Potřebné časové změny v uváděných metodikách (testovací dny/týdny) je možné aktualizovat na základě korelační analýzy, tj. hodnot korelace mezi časovým okamžikem  $t_k$  a  $t_{k-1}$ .

Měření epileptické reakce je důležité především v souvislosti s testováním kognitivních schopností.

Další část zhodnocení se týká především *použitých metod vyhodnocení*. Při vyhodnocování experimentu je důležité brát ohled na jednotlivé faktory experimentu a na základě testované hypotézy správně provést klasifikaci dat do hodnocených skupin. Toto lze provést např. pomocí navrženého klasifikačního kritéria a za využití analýzy rozptylu (konkrétně hodnot  $p$ -value). Obecně nelze klasifikaci zhodnotit, snad jen uvést, že v případě testování mutantních jedinců Lurcher a jedinců Wild je mutace velmi silným faktorem u testů motorických. Pro testování v MWM a test open-field je též důležitý typ kmene, u kmene C3H zraková schopnost (slepota) a pokud je v rámci experimentu prováděn trénink, tento je též důležitým faktorem.

Při rozdělování dat do skupin je nutno brát ohled na velikost těchto skupin. Základním nedostatkem je pro následné vyhodnocování roztržitost dat. Ve velkém množství případů jsou skupiny nevyrovnané. Ačkoliv z provedených citlivostních analýz na počet dat vyplynulo, že u inbredních kmenů stačí pro ověřování hypotéz malé množství dat (šest). Po provedených analýzách lze říci, že klasifikaci lze provádět nejčastěji do úrovně dělení dvou až tří faktorů. Pokud je cílem vyhodnocení vlivu faktoru na úrovni nižší a klasifikační kritérium není splněno, provedené vyhodnocení a závěry nemusí být správné.

V rámci analýz byly navrženy a testovány tři metody vyhodnocení. Dvě z nich vychází ze standardního přístupu k vyhodnocování (dle atributu úspěšnost, dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu) a jedna je nová (dle vývoje statistické vzdálenosti). Pro všechny metody je též definována vydatnost učení, která definuje, jak rychle se učení zvyšuje či snižuje (zapomínání). Její velikost vypovídá o tom, kdy je ještě vhodné provádět další měření (obdobně jako korelační koeficient).

Každá z uvedených metod má své výhody a nevýhody. Metoda vyhodnocení dle atributu

úspěšnost je založena na hodnotách pravděpodobnosti setrvání na nářadí do daného časového limitu pro testování motorické nebo pravděpodobnosti dosažení ostrůvku pod danou časovou hranici pro testování kognitivní. V případě testování open-field by se mohlo jednat o pravděpodobnostní rozložení dosažení určité dráhy, avšak tato metoda testování nemá metodicky danou hodnotu  $s_{lim}$ . Při samotném využití vyhodnocení pomocí atributu úspěšnost přístupu není možné využít pro testování platnosti hypotézy  $H_0$  statistické testy, jelikož schopnosti jedinců v porovnávaných skupinách jsou popsány jednou hodnotou.

Další nevýhodou této metody je zanedbání informace v případech, kdy dochází k učení, ačkoliv test není vyhodnocen jako úspěšný. Z uváděných metod vyhodnocení obecně dosahuje nejvyšších hodnot chyby metody (až 30%) i měření (z uváděných metod vyhodnocení), proto není vhodné metodu samostatně využít. Přesto podává jakýsi „první“ náhled na provedení experimentu a společně s vyhodnocením dle středních hodnot atributu doba vstupu podává ucelenější pohled na provedení experimentu, než obě dvě zvlášť.

Na základě atributu úspěšnost je též možné určit míru informace, informační přínos a kvalitu učení. Informační přínos udává rozdíl míry informace  $I$  dvou po sobě jdoucích testů. Kvalita učení v experimentu značí posun ukazatele kvality vydatnosti učení. Informační analýza však pro vyhodnocení provedených experimentů ve většině případů nepřinesla nové poznatky (kromě vydatnosti a kvality učení), jelikož podmínkou přínosu této informace je dostatečně mohutný soubor dat.

Výhodou další metody (hodnocení dle vývoje středních hodnot atributu doba vstupu  $\mu \pm SEM$ ) je především zahrnutí učení u motorického testování i v případě neúspěšnosti testu. Také by jí měla být interpretovatelnost výsledků z pohledu odborníku, jelikož se jedná o metodu standardně využívanou pro kognitivní testování. Avšak interpretace chyby průměru bývá v odborných textech často nesprávná. Kromě uvedeného průměru a chyby průměru schopností jedinců je vždy také pro popis procesu učení vhodné určit vydatnost učení. Pro testování hypotéz lze v tomto případě využít standardní statistické testy (např. Mann-Whitney U test, t-test či ANOVA pro  $t_L$ ). Posouzení přijetí či zamítnutí hypotézy  $H_0$  je poté na samotném odborníkovi, stejně jako u standardního způsobu vyhodnocení.

Tato metoda obecně dosahuje nejmenších chyb metody pro menší počty dat ve skupinách (především pro skupiny o původní velikosti menší než 30). Nejmenší chyba metody je dána velikostí SEM, která je definována na základě velikosti směrodatné odchylky. Čím větší je směrodatná odchylka, tím větší je i hodnota SEM. V případě hodnocení jednou hodnotou, pouze za pomoci parametru  $\mu$  (bez využití informace SEM), již nejmenších odchylek dosahuje metoda vyhodnocení dle statistické vzdálenosti. Z tohoto vyplývá i základní nevýhoda uvedené metody a to nedostatečně vypovídající schopnost vyhodnocení z důvodu překrývání intervalů  $\mu_{t_L} \pm SEM_{t_L}$ .

Třetí využívanou metodou je metoda vyhodnocení dle vývoje statistické vzdálenosti  $D_p$  a  $W_d$ , vycházející z určování statistické vzdálenosti distribučních funkcí. Za referenční distribuční funkci je považována distribuční funkce získaná z mediánu schopností před ovlivněním, pokud je tato informace k dispozici. Jinak je jí první provedený test v rámci testování. Znормovaná hodnota  $W_d$  udává v případě motorického testu prodloužení doby pádu z náradí (učení), v případě kognitivního testu zkrácení doby nalezení ostrůvku od hodnoty referenční (v sekundách),  $D_p$  značí nárůst pravděpodobnosti dosažení limitní hodnoty experimentu pro test motorický či okamžitého nalezení ostrůvku v případě testu kognitivního. V případě testu open-field nejčastěji nárůst/pravděpodobnost nárůstu ušlé dráhy v aréně. Metoda nezahrnuje ve své interpretaci chybu odhadu, avšak dosahuje jen o něco větších chyb než metoda předchozí (při menší velikosti souboru zhruba do 5%) a tudíž je pro co nejpřesnější identifikaci procesu učení tímto vhodné spíše využít tuto metodu.

Tato metoda je závislá na apriori znalostech a na volbě vhodné aproximace empirických dat. Nejvhodnější aproximace je volena dle minima kritériální funkce pro určení vzdálenosti aproximace vybraným rozdělením od empirické distribuční funkce. Dle provedených analýz lze vyvodit, že pro testy, kde je větší množství výsledků měření naakumulovaných k jedné hodnotě, je vhodné využít aproximace normálním či Weibullovým rozdělením. Naopak v případech, kdy se výsledky měření od limitní hodnoty vzdalují, resp. více se rozptylují v intervalu  $(0, t_{lim})$ , je vhodné využít Coxova fázového rozdělení. Jeho výhodou je využitelnost při větší diverzitě měřených hodnot. V případě experimentů prováděných v MWM daleko více než u testů motorických záleží na rozložení výsledků měření, tj. tvaru distribuční funkce vyhodnocované skupiny.

Základní výhodou této metody je zřejmý popis procesu učení, tj. o kolik sekund či o kolik procent se mění výsledky testování, a nezávislost rozdílu schopností mezi jednotlivými skupinami na začátku experimentu. Proces učení je definován v rámci dané konkrétní skupiny. Pokud jsou tedy na začátku schopnosti rozdílné, je zřetelné, zda se učí stejně či v případě testování hypotéz o dosažení shodných schopností rychleji/pomaleji. Stejně jako u předchozí metody lze i zde pro podporu přijetí/zamítnutí hypotézy  $H_0$  odborníkem použít standardní statistické testy, jelikož přístup vychází také z hodnot atributu  $\tau$ . Nevýhodou je nutnost využítí apriori informace. Tato metoda slouží více k popisu procesu učení než k popisu schopností jedinců.

Závěrem této části ještě uvedme náměty na dalších analýzy. Pro volbu vhodné aproximace je jím vliv posunutí začátku pro porovnání statistické vzdálenosti aproximace daným rozdělením a empirických dat z v této práci stanovené nuly do minimální hodnoty naměřených dat. Pro využití metod hodnocení dle statistických vzdáleností a volbě aproximace by bylo možné provést rozšíření navrhovaných metod o vícerozměrnou analýzu, tzn. např. pro motorické testování využít jednotlivé metody testování pro tvorbu vektoru příznaků

(sdruženou distribuční funkci) a hodnotit motorické testy jako jeden celek.

Doporučený způsob vyhodnocování experimentů a popis procesu učení je uveden v následující kapitole 8.

## 7.1 Odpovědi na předem formulované otázky

Z provedených analýz na tomto konkrétním experimentu je možno odpovědět na předem formulované otázky. Odpovědi jsou stručné vzhledem k výše uvedenému zhodnocení.

1. *Jaký je vzájemný vztah procesu učení a excitability CNS?*  
Excitabilita CNS ovlivňuje kognitivní schopnosti a tedy proces prostorového učení.
2. *Jak je charakterizován proces učení typem kmene, druhem poruchy a pohlavím při daném experimentu?*  
Jednoznačně je velmi silným faktorem porucha (mutace). Vliv faktoru typ kmene je závislý na typu a metodice experimentu, jelikož kmen C3H je ovlivňován slepotou. Pohlaví není obecně významným faktorem.
3. *Jaký je vztah celkových motorických schopností k výsledkům jednotlivých metod testování? Jaká metoda je nejvíce vypovídající?*  
Motorické schopnosti na nářadích jsou odlišné a vzhledem k malým korelacím mezi testovacími metodami nelze určit jednu metodu jako nejvíce vypovídající.
4. *Je pro vyhodnocení motorických schopností jedinců dostatečně vypovídající jedna provedená série testů (4x za sebou)?*  
Není. Je potřeba provedení minimálně jednoho testu před ovlivněním a minimálně 3 testy po něm.
5. *Jak ovlivňují proces učení počáteční podmínky experimentu a využití apriori informace?*  
Změna počátečních podmínek má výrazný vliv (např. trénink před samotným testováním). Apriori informace má důležitý vliv, avšak jeho důležitost je dána počtem provedených testů a využitou metodou vyhodnocení procesu učení.
6. *Jaký vliv na učení má změna podmínek během prováděného experimentu?*  
Změna podmínek ovlivňuje proces učení, většinou dojde při změně k zapomínání.
7. *Jsou vhodně zvoleny (resp. dostatečně vypovídající) vyhodnocovací metody? Jak moc vypovídá daná metoda vyhodnocení o procesu učení?*  
Pro vyhodnocení kognitivního testování je latence dostačujícím výstupem, standardní

metody vyhodnocení za využití střední hodnoty a chyby průměru lze označit za vypovídající (především při malém počtu dat), ale je nutno získané výsledky správně interpretovat (minimálně chybu průměru SEM). V případě motorického testování musí být každá testovací metoda vyhodnocována samostatně. Vyhodnocení procentuální úspěšnosti (kvantování úspěšnosti) je velice omezené a nedostatečně vypovídající.

8. *Jaký informační přínos má každý následující test daného experimentu? Kdy už je rozdíl vypovídající?*

Informační přínos je výraznější u učení kognitivního, především v prvních dnech experimentu. Vypovídající rozdíl je od 5./6. dne testování. U testování motorického nelze z určených informačních přínosů vyvodit žádné závěry.

9. *Jak se vyvíjejí závislosti (i v čase) při využití různých metod, je možné mluvit o kauzalitě?*

O kauzalitě lze u motorických testů mluvit v rámci jednotlivých sérií. U kognitivního testování v bludišti o kauzalitě mluvit jde – pro kognitivní test by pak mělo být dostačující provedení šesti testů.

10. *Jaké nové informace nám přinese analýza chyb?*

Vždy je vhodné využít apriori informaci, ačkoliv její vliv je dán metodou vyhodnocení a počtem provedených testů. V případě nevyužití apriori informace je možné definovat proces učení na základě využití vyhodnocení pomocí parametrů normálního rozdělení doby (nejlépe v kombinaci s hodnocením úspěšnosti). Pro samotnou co nejpřesnější identifikaci procesu učení je dobré využít vyhodnocení metodou statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$ , pro které je apriori znalost schopností jedinců nezbytná.

Chyby metody vyhodnocení a chyby měření klesají se zvyšujícím se množstvím jedinců ve skupině. Největší chyba metody se vyskytuje při hodnocení procesu učení dle atributu úspěšnost  $u$ , nejmenší při hodnocení dle střední hodnoty atributu  $\tau$ , což je způsobeno využitím (SEM). Vyhodnocení te tímto vhodné provádět buď za využití ( $\mu$ SEM) (se správnou interpretací (SEM) či pro co nejpřesnější popis procesu učení dle statistické vzdálenosti  $D_p$ , resp.  $W_d$  (nejlépe pro 12 a více jedinců), současně s metodami testování hypotéz založenými na porovnávání hodnot atributu  $\tau$  (informace o hodnotách pravděpodobnosti úspěchu je vhodná jako doplňková).

Klasifikace dat do skupin, které mají být porovnávány, by měla vycházet ze síly vlivu jednotlivých faktorů s ohledem na testovanou hypotézu  $H_0$  a být prováděna s ohledem na počet jedinců v hodnocených skupinách.

11. *Jsou experimenty prováděny na dostatečně hutném vzorku zvířecích jedinců?*

U testování inbredních kmenů je pro získání statisticky významných výsledků dostačujících 6 jedinců v porovnávaných skupinách, avšak mohutnější soubor přináší přesnější

informace především z pohledu vyhodnocení procesu učení za využití metod určujících statistickou vzdálenost.

12. *Jakých se při pokusech dopouštíme kvalitativních chyb?*

U všech testovacích metod se jedná především o nedostatečné využití apriori informace, nesprávnou interpretaci chyby (SEM) a nevyužití vhodné aproximace. U vyhodnocování procesu učení u motorického testování jde pak o nevhodné využití metody kvantování úspěšnosti, tj. nezahrnutí dynamiky učení v dané sérii a při provádění testů v MWM metodicky nedostatečný počet provedených testů při změně podmínek během experimentu.

## 8 Doporučený způsob vyhodnocování experimentů

V této kapitole jsou na základě provedených analýz uvedeny dva doporučené metodické postupy provádění a vyhodnocování experimentů. První z nich je orientován tak, aby co nejméně zasahoval do standardně používaných metodik měření a metod vyhodnocování. Druhá varianta spočívá ve velkých změnách, především v metodách vyhodnocení. Postupy by měly být dodržovány v níže uvedeném chronologickém pořadí. Závěrem jsou zmíněny některé detailnější poznatky, související s uvedenými postupy, a některé možnosti vylepšení a rozšíření jednotlivých kroků postupu, které by však vyžadovaly další detailní analýzy.

### 8.1 S minimálním zásahem do standardních metod

První varianta minimálně zasahuje do odborníky standardně užívaných metod, jedná se spíše o doporučení minimalizující chyby, kterých se standardními metodami mohou při vyhodnocování dopouštět. Změny jsou velice jednoduše použitelné, jejich výstupy dobře interpretovatelné a k jejich určení postačí běžné statistické softwarové nástroje.

1. Stanovení hypotézy experimentu a výběr vhodné experimentální metody ověřování (tento krok je standardní a zcela v kompetenci odborníka).
2. Před začátkem samotného experimentu na testování vlivu faktoru na motorické a kognitivní funkce jedinců provedení alespoň jednoho měření, které by vypovídalo o schopnostech testovaných jedinců před ovlivněním, popř. poukázalo na odlišné schopnosti testované a kontrolní skupiny. Jedná se o získání apriorní informace.
3. Postupné provádění korelační analýzy mezi jednotlivými měřeními (u motorických testů vyhodnotit v celé sérii), tj. sledovat změnu korelačního koeficientu. Pokud začne v případě učení stagnovat či se snižovat, nejsou nutná další měření, naopak pokud stále roste a není rovna jedné, není vhodné experiment ukončovat. V případě zapomínání toto platí opačně (korelační koeficient by měl klesat k nule).  
Tento krok není zcela nutný, ale může pomoci redukovat či naopak oproti standardní metodice navýšit počet provedených měření.
4. V případě kognitivního testování provedení testování epileptické reakce.
5. Provedení analýzy faktorů s ohledem na testovanou hypotézu (za využití MANOVY či ANOVY). Pokud existuje faktor se statisticky významným vlivem na měření, který není součástí testované hypotézy, je přesto nutné brát jej při vyhodnocení v úvahu (tzn. rozdělit námi porovnávané skupiny podle určeného faktoru a faktoru testovaného hypotézou).

6. Provedení klasifikačního testu a klasifikace dat do skupin s ohledem na výsledky testu, výsledky analýzy z bodu 4. a testovanou hypotézu.
7. Vyhodnocení procesu učení/zapomínání na základě měření dob dle jednotlivých provedených testů v určených skupinách pomocí metod méně citlivých na odchylky od normality – kvantilové informace, možné extrémy, odlehlé hodnoty (vizualizace např. boxploty). V případě kognitivního testování není nutno hodnotit dle jednotlivých startů (pouze pokud je toto žádáno odborníkem), stačí dle jednotlivých testů (průměrná hodnota).  
V případě využití hodnocení parametry normálního rozdělení (střední hodnota, chyba průměru či směrodatná odchylka) je třeba dát velký pozor na interpretaci výsledků!
8. Vyhodnocení procesu učení/zapomínání dle úspěšnosti jednotlivých provedených testů v určených skupinách (pokud je žádáno odborníkem).
9. Vyhodnocení hypotézy standardními metodami (Mann-Whitney U test pro úspěšnost, ANOVA pro dobu). Důležité je použít stejné rozdělení porovnávaných skupin, jako v bodě 7.

## 8.2 Se zásadním zásahem do standardních metod

Durhá varianta doporučení již daleko více zasahuje do odborníky standardně užívaných metod, resp. jedná se o nový přístup k vyhodnocení, především měřené doby. Využití těchto metod je složitější, největší komplikací je v některých případech složitost či větší výpočetní náročnost při identifikaci parametrů zvolených rozdělení. Avšak při využití tohoto postupu odborníci získají daleko více informací při vyhodnocení experimentů (především o procesu učení) a dopustí se minimálních chyb.

1. – 6. Prvních 6 kroků odpovídá krokům doporučeného způsobu s minimálním zásahem do standardních metod z předchozí kapitoly 8.1.
7. Stejně jako v předchozí kapitole vyhodnocení procesu učení/zapomínání dle úspěšnosti jednotlivých provedených testů v určených skupinách. Navíc je v tomto kroku požadováno provedení vyhodnocení informačního přínosu jednotlivých testů.
8. Nalezení nejvhodnějšího rozdělení pro hodnocení procesu učení/zapomínání na základě měření dob dle jednotlivých provedených testů. Nejvhodnější aproximace má být volena dle minima kritériální funkce. Pro určování odchylek empirických distribučních funkcí jednotlivých testů experimentu a aproximací zvolenými rozděleními využít metodu hodnocení statistické vzdálenosti v pravděpodobnosti. Nezapomenout na modifikaci metody pro hodnocení v  $L2$ .



Do výběru rozdělení zařadit minimálně Weibullovo a normální rozdělení a v případě větší diverzity dat Coxovo fázové rozdělení.

9. Vyhodnocení procesu učení/zapomínání na základě měření dob dle jednotlivých provedených testů v určených skupinách (bod 6.) pomocí vyhodnocení v jednotkách náhodné proměnné. Vyhodnocení musí vycházet z aproximace měření rozdělením určeným v bodě 8. Proces učení/zapomínání dle dob vyhodnotit též pomocí vyhodnocení v pravděpodobnosti.

V případě vyhodnocení jednoho jediného prováděného měření nelze tuto metodu použít. Vyhodnocení lze v takovémto případě provést maximálně pomocí parametrů nejvhodnějšího rozdělení. Tato situace však v případě provedení apriori měření nenastane.

10. Vyhodnocení hypotézy expertním odhadem na základě vyhodnocení procesu učení/zapomínání dle bodu 9. i standardními metodami (Mann-Whitney U test pro úspěšnost, ANOVA nebo t-test pro dobu). Nezapomenout na stále stejné rozdělení porovnávaných skupin, dle bodu 6.

### 8.3 Další doporučení a možnosti rozšíření

K některým bodům ve výše uvedených postupech je vhodné zmínit další poznatky, související jak se samotnými metodikami získávání dat, tak s metodami vyhodnocení. Obecně by pro všechna testování mělo platit, že by mělo být ve všech jednotlivých testech testováno stejné množství jedinců, pokud je toto možné. Pochopitelně to není možné v případě např. úhynu jedince či odebírání jedinců na histologii. Přesto u některých prováděných experimentů toto pravidlo není dodržováno.

V práci je popsán vliv apriori měření. Zde je potřeba upřesnit údaj „před začátkem samotného experimentu“ v bodu 2. uvedených postupů. Jak bylo v některých vyhodnocovaných experimentech prokázáno, trénink je významným faktorem na motorické a kognitivní schopnosti jedinců. Pokud by měření proběhlo v krátké době před samotným začátkem experimentu po ovlivnění testovaných jedinců, mohlo by toto posloužit právě jako trénink. Proto je důležitý časový odstup, aby jedinci na provedená apriori měření „zapomněli“. K určení dostatečného časového odstupu by bylo nutné provést další analýzy.

Pokud na základě korelační analýzy dojde k omezení či rozšíření počtu dnů měření, potom není možné vyhodnocovat společně více metodicky stejných experimentů. Je zde tedy riziko spojené s následným rozšiřováním datového souboru. Metodiku lze proto upravovat v případě nezávislého experimentu či prvního ze společně vyhodnocovaných (metodika souvisejících pak musí být stejně upravena, tj. počet testů ve všech experimentech musí být stejný).

Při provádění korelační analýzy by bylo zajímavé určení vzájemných vztahů mezi všemi metodami testování, tzn. nejen v rámci motorického či kognitivního testování, ale např.

mezi nimi či jejich vztah k testu open-field apod. Problémem je, jak k takovéto korelační analýze přistupovat, především z důvodu nestejného počtu provedených testů. Takováto dílčí testování mohou být porovnávána např. pomocí testu, kdy jedinci dosáhnou maxima svých schopností či pomocí posledních pokusů experimentu. Problémem by však mohla být správná interpretace výsledků. Tato analýza nebyla provedena a je námětem na další práci.

Co se týče analýzy citlivosti na faktory u motorického testování lze určit ty statisticky významné dle průměrné hodnoty  $p$ -levelu z jednotlivých testů na dané hladině významnosti. Pokud bude testování na každém nářadí hodnoceno samostatně, je vhodné využití metod klasifikace dat uvedených v této práci (vliv faktorů dle ANOVY pro každé nářadí zvlášť). Obecně lze říci, že významný faktor má i v tomto případě průměrnou hodnotu  $p$ -levelu výrazně nižší než u faktorů nevýznamným. Dalším potřebným přístupem je proto expertní odhad vlivu samotným odborníkem na základě výsledků analýzy citlivosti v jednotlivých testech konkrétního typu motorického testování.

Klasifikace dat by měla být prováděna s ohledem na výsledky analýzy citlivosti na faktory, dále dle hodnot  $J$  kritéria, hypotézu  $H_0$  a množství dat v klasifikovaných skupinách. Nejprve data musí být rozdělena dle statisticky významných faktorů (pokud sledovaný faktor experimentu sám není statisticky nejvýznamnějším). Poté by měla být prováděna klasifikace dle hodnot  $J$  kritéria na základě postupného dělení dle získaného pořadí vlivu dalších faktorů. To vše s ohledem na  $H_0$  a počet dat, aby nedošlo k velké rozdrobenosti dat a mohla být testována nulová hypotéza.

Při vyhodnocování testované hypotézy pomocí atributu úspěšnost je třeba si uvědomit, že uvedeným vyhodnocením obdržíme jednu hodnotu – hodnotu pravděpodobnosti úspěchu dané skupiny v daném testu. Pokud bychom chtěli vyhodnocovat hypotézu např. o shodnosti úspěšností mezi skupinami, je třeba převést měřený čas u každého jedince dle metodiky experimentu na hodnoty jedna/nula, tj. úspěch/neúspěch, a takto skupiny standardními metodami porovnávat.

V případě výběru aproximací lze využít expertních znalostí a odhadů na základě histogramu měřených dob. Vhodnost aproximace je závislá na rozložení dat.

Ideálním přístupem k analýze experimentu dle statistické vzdálenosti by bylo využití vhodné aproximace pro každé měření na základě hodnot  $D_p(F_{A_i}, F_X|t_k)$  a poté určení statistické vzdálenosti  $D_p(F_k, F_{ref})$  od zvolené referenční aproximace. To znamená využít nejjednodušší aproximace, což by mohlo být bráno jako nevýhoda takovéhoho přístupu. Hlavní výhodou je poté to, že výsledný získaný proces učení je mnohem kvalitnější než při zvolení jednoho konkrétního rozdělení pro aproximaci empirických dat. Tímto bychom vyhodnocení ještě více zpřesnili. Nevýhodou takovéhoho přístupu je však především náročnější metodika při určování nejjvhodnější aproximace pro každé provedené měření. Tento způsob však nespíš bude pro odborníky komplikovaný, proto je v této chvíli doporučována jedna společná

aproximace pro všechna měření jedné testovací metody experimentu.

Metoda analýzy pomocí statistické vzdálenosti by mohla být samozřejmě využita přímo za využití empirických distribučních funkcí, ale vzhledem k častému malému počtu dat a metodickému omezení experimentu je aproximace pro interpretaci výsledků vhodnější, jelikož dojde k potlačení některých chyb.

Závěrem zmiňme, že v případě motorického testů a provedení více metodických testů (více nářadí) by bylo možné využít vícerozměrné proměnné zahrnující všechny provedené testy. Využitelnost zde uváděných metod by musela být ověřena dalšími analýzami.

## 9 Závěr

Neurodegenerativní onemocnění jsou velkým problémem dnešní populace. Je tedy pochopitelné, že je stále prováděn výzkum zkoumající jejich aspekty. V laboratorním prostředí je prováděno mnoho experimentů věnujících se testování motorických a kognitivních schopností, které jsou těmito onemocněními silně ovlivněny.

Předkládaná práce se zabývá metodami a přístupy měření a vyhodnocování biologických modelů postavených pro prováděné experimenty na zvířecích modelech, zaměřených právě na výzkum neurodegenerativních chorob spojených s procesem učení. Výzkumem různých vlivů především na schopnosti prostorového učení a motorické funkce se zabývají i odborníci Ústavu patologické fyziologie na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Plzni, kteří pro tuto práci poskytli potřebná data.

Tématem práce je analýza metodik experimentů, analýza standardně využívaných metod, analýza chyb těchto metod, návrh metod nových, které budou lépe interpretovat výsledky měření, resp. lépe popisovat proces učení a metody eliminace určených chyb. Zmíněné chyby mohou vzniknout nevhodnou metodikou, nesprávným způsobem záznamu výsledků, nevhodnou interpretací, ale samozřejmě i neurčitostí daných laboratorních experimentů. Formulace řešené úlohy je podrobně popsána v 2. kapitole této práce.

Mezi standardně používané metody testování nervových funkcí u myších jedinců patří testování motorické koordinace na hrazdě, žebříku, válci či lávce, testování správnosti dopadu při pádu, kognitivní testování, tj. prostorové učení, v Morrisově vodním bludišti a testování chování v open-field (viz kapitola 3). Při experimentech je měřena latence, tj. doba setrvání na nářadí či doba strávená v bludišti. Vyhodnocována je pak především úspěšnost testů a latence, v závislosti na metodice experimentu. Při testu open-field je nejčastěji měřena ušlá dráha za daný čas. Latence a dráha je nejčastěji vyhodnocována odhadem střední hodnoty (aritmetickým průměrem) a chybou odhadu střední hodnoty (chybou průměru SEM) či někdy odhadem směrodatné odchylky, úspěšnost procentuálně. Výjimečně je při vyhodnocování využito hodnot mediánu a kvartilového rozpětí. Hypotézy jsou vyhodnocovány analýzou rozptylu nebo U-testem, nejčastěji na hladině významnosti  $\alpha = 0.05$ .

Při testování je běžně používáno inbredních zvířat, jejichž vlastnosti a schopnosti jsou velice blízké. Pro testování je doporučováno cca 6 ÷ 10 jedinců v hodnocených skupinách. Proto je část práce zaměřena na citlivostní analýzu množství dat.

V kapitole 4 jsou kromě odborníky standardně užívaných metod pro vyhodnocení uvedeny možné inovativní přístupy získávání informací pro komplexní vyhodnocení experimentu a procesu učení. V první části inovativních přístupů jsou uvedena doporučená zlepšení či rozšíření vyhodnocení s využitím stávajících způsobů měření.

První z těchto přístupů je využití korelační analýzy. Pokud by vyhodnocovaný experiment

vykazoval rozdílné chování oproti standardní metodice v potřebném počtu prováděných testů během experimentu, korelační analýza by jej odhalila. Metodika experimentu by mohla být tedy ještě v průběhu testování modifikována. Toto se týká testování v určitém časovém sledu pro konkrétní typ testování (motorický test na nářadí, kognitivní test, open-field apod.). Vzhledem k nejednotnosti doby trvání jednotlivých testů je problém, jaká konkrétní měření pro mezi různými typy testování pro porovnání volit. Samotné korelace nám nemohou dát dostatečné informace o neurálních procesech, avšak mohou pomoci redukovat či naopak rozšířit počet dnů testování a proměnných dostačujících k popisu zkoumaných procesů.

Další navrhovaným přístupem je po provedení korelační analýzy využití ANOVY pro určení citlivosti výsledků měření na jednotlivé faktory. Analýza citlivosti na faktory má sloužit k tomu, aby interpretace výsledků byla co nejpřesnější. Je správné brát při vyhodnocování v úvahu faktory, které ovlivňují testovanou hypotézu, i když přímo nejsou sledovaným faktorem dle hypotézy experimentu.

Vzhledem k časté nevyváženosti měřených dat se pro interpretaci výsledků, především pro atribut latence, místo momentů normálního rozdělení jeví jako lepší kvantilové informace. I za pomoci těchto hodnot, lze definovat proces učení např. mediánem. S tímto souvisí první zásadní změna v metodách vyhodnocení, a to, že vyhodnocení motorického testování by mělo probíhat ve všech časových okamžicích samostatně, data by se neměla průměrovat a kvantovat v jednotlivých sériích. Zde je významná dynamika procesu učení během sérií. V případě kognitivního testování naopak není nutno hodnotit zvláště starty z každé světové strany samostatně.

Pro využití korelační analýzy, citlivostní analýzy pro faktory a interpretaci pomocí kvantilů není třeba zasahovat do samotných metodik měření experimentů. Lze je odborníky snadno použít a interpretovat jejich výstupy za pomoci stávajících prostředků odborníkům dostupných.

V případě hodnocení experimentu ve všech časových okamžicích samostatně není pro motorické testy možné standardní vyhodnocení procentuální úspěšnosti. Pokud bychom chtěli hodnotit experiment na základě atributu úspěšnost, je nutné hodnotit pravděpodobnost úspěchu dané skupiny v jednotlivých testech.

Při tomto způsobu vyhodnocení je vhodné určení velikosti informačního přínosu jednotlivých testů. Informační přínos z hlediska vyhodnocení experimentu podává informaci, kdy je ještě potřebné provádět další testy v rámci experimentu a kdy už je přínos dalšího testu minimální (obdobně jako korelační analýza, nejčastěji pro atribut doby). Podmínkou přínosu této informace je dostatečně mohutný soubor dat. Totéž platí i pro testování kognitivní.

Dále byly pro hodnocené experimenty provedeny analýzy na základě aproximace empirických dat (měření) normálním rozdělením, a to konkrétně hodnocení atributu latence

$\tau$  dle odhadu střední hodnoty a chyby odhadu střední hodnoty a odhadu směrodatné odchylky či využití metod vyhodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné. Největším nedostatkem standardního hodnocení dle střední hodnoty je nepřesnost interpretace chyby odhadu střední hodnoty a směrodatné odchylky. Metody vyhodnocení statistické vzdálenosti jsou zase nejvíce náchylné na využití apriori informace.

U všech zmíněných vyhodnocovacích metod může být odborníkovi k expertnímu závěru platnosti testování hypotézy nápomocná informace o vydatnosti a kvalitě učení.

V návaznosti na výše uvedené jsou poté pro uvedené metody hodnocení v kapitole 5 uvedeny možné chyby a metody jejich eliminace. Konkrétně je zde popsána analýza využití/nevyužití apriori informace, citlivostní analýza na množství dat a metoda určení odchylek měření a metody, včetně přístupu k zhodnocení důsledků nevhodné klasifikace dat.

Pro aproximaci empirických dat normálním rozdělením se nejmenší chyby měření a chyby metody při snižujícím se počtu dat vyskytují při vyhodnocení dle středních hodnot  $\mu \pm \text{SEM}$ . Nejmenší chyba metody je dána velikostí SEM, která je definována na základě velikosti odhadu směrodatné odchylky. Interval  $\langle -\text{SEM}, \text{SEM} \rangle$  však dosahuje hodnot i 20% rozsahu měření. Pro co nejpresnější identifikaci procesu učení je tímto vhodné spíše využít metodu vyhodnocení dle statistické vzdálenosti, tj. vyhodnocení v pravděpodobnosti, resp. v jednotkách náhodné proměnné. Tato je však nejvíce náchylná na využití apriori informace.

Teorie popsaná v kapitole 4 (konkrétně 4.3 – 4.5) a v kapitole 5 lze využít pro aproximaci empirických dat jakýmkoliv rozdělením. Další část práce je proto věnována metodám nalezení rozdělení, které přesněji popisuje sledovaný atribut dobu (či v případě open-field dráhu). Pro rekonstrukci dat a identifikaci parametrů či definování odchylek lze využít distribuční funkce. Vhodnější aproximace empirických dat je pouze přínosem k vyhodnocení z hlediska potvrzení či zamítnutí studované hypotézy experimentu a popisu procesu učení.

Metoda výběru vhodné aproximace dle distribuční funkce je založena na využití pravděpodobnostního přístupu. Z důvodu zvýraznění odchylek empirické distribuční funkce a její aproximace daným rozdělením jsou metody upraveny pro hodnocení v  $L2$ . Nejvhodnější aproximace je volena dle minima kritériální funkce. Uvedený přístup lze využít pro vyhodnocení vhodnosti jakéhokoliv rozdělení.

Dle provedených analýz nelze vyvodit obecný závěr, které rozdělení je pro aproximaci empirických dat získaných měření jednotlivých testů nejvhodnější. Pro testy, kde je větší množství výsledků měření naakumulovaných k jedné hodnotě, je vhodné využít aproximace normálním či Weibullovým rozdělením. Naopak v případech, kdy se výsledky měření od limitní hodnoty vzdalují, resp. více se rozptylují v intervalu  $(0, t_{lim})$ , je vhodné využít Coxova fázového rozdělení. Pro úplnost uváděné analýzy byly pro každý test experimentu určeny odchylky aproximací empirických dat danými rozděleními od aproximace vybraným vhodným.

V kapitole 6 jsou pro ilustraci navržených inovací a využití nových metod provedeny a

zhodnoceny dílčí analýzy na ukázkovém experimentu. Poté je provedeno kompletní shrnutí pro experimenty ostatní, včetně úprav metodik experimentů.

Z hlediska této práce a jejích cílů je pro odborníky shrnut metodický postup měření a vyhodnocování experimentů motorických a kognitivních schopností, a to ve dvou variantách. Nejdříve s minimálním zásahem do jimi užívaných standardních metod, poté s velkými změnami v metodách vyhodnocení (kapitola 8). Též jsou zde uvedena související doporučení k uvedeným zásahům a změnám.

Shrneme-li zde uvedené, lze vyvodit závěry, že standardním hodnocením si odborníci omezují možné množství získané informace (především pro motorické testování). Motorické testy je vhodné hodnotit zvláště ve všech časových okamžicích z důvodu dynamiky učení v sérii.

Během provádění experimentu je vhodné provádět korelační analýzu pro určení postačujícího či dostatečného množství testů experimentu. Poté jako další krok vyhodnotit postačující množství měřených výstupů pro vyvození závěrů experimentu a zhodnotit vliv faktorů experimentu s ohledem na testovanou hypotézu.

Pokud je odborníkem požadováno co nejjednodušším, přehledným a snadno pochopitelným způsobem vyhodnotit proces učení, resp. změny ve schopnostech jedinců, je lepší využít k popisu datového souboru hodnoty kvantilů než běžně užívaných odhadů středních hodnot a souvisejících statistických parametrů. Pro tyto je navíc nutné dát si velký pozor na interpretaci (rozdíl v chybě průměru a směrodatné odchylce).

Pro vyhodnocení je potřebné mít informace o schopnostech před začátkem ovlivnění jedinců (tj. apriori informace). Ne vždy totiž platí, že schopnosti kontrolní skupiny jsou před začátkem experimentu buď porovnatelné či dostatečně odlišné v závislosti na hypotéze prováděného experimentu. Jenom pro připomenutí uvedme, že za začátek experimentu považujeme 1. test po vystavení druhé skupiny nějakému vlivu (porovnáváné s kontrolní). Pokud ovšem informace o počátečních schopnostech jedinců nejsou k dispozici, je vhodné využít vyhodnocení metodami méně citlivými na odchylky od normality či parametry normálního rozdělení. Pro hodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné je znalost informace o schopnostech jedinců před začátkem jakéhokoliv ovlivnění schopností velice důležitá.

Pro získání co nejpřesnějšího popisu procesu učení je tedy potřeba znalost apriori měření, využití korelační analýzy a analýzy citlivosti na faktory (a následně potřebné rozdělení naměřených dat), porovnání několika možných aproximací měřených dat a vyhodnocení pomocí metod hodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné.

Open-field test je testem behaviorálním a tudíž pro něj není proces učení definován. Přesto lze pro jeho vyhodnocení využít metod hodnocení dle střední hodnoty náhodné veličiny

(v tomto případě dráhy  $s$ ) a hodnocení dle statistické vzdálenosti.

Závěrem je vhodné dodat, že při jakémkoliv uvedeném způsobu vyhodnocení je dobré statistickou významnost rozdílů, resp. ověřování předkládaných hypotéz, porovnávaných skupin i nadále hodnotit prověřeným U-testem, t-testem nebo ANOVOU, dle metodiky experimentu.



## Resumé

Práce se zabývá metodami měření a vyhodnocení experimentů prováděných na zvířecích modelech. Analýzy jsou zaměřeny na experimenty motorického a prostorového učení inbredních kmenů myši spojených s výzkumem neurodegenerativních chorob. V souvislosti s prováděnou analýzou chyb uvedených metod je popsán systém definující proces učení, potřebný k vyhodnocování testovaných hypotéz (společně z využitím standardních metod testování hypotéz). Pro správné rozdělení datového souboru je navrženo klasifikační kritérium.

V práci jsou uvedeny nedostatky měření a standardních metod vyhodnocení a dále pak možné inovativní přístupy získávání informací pro komplexní vyhodnocení experimentu a procesu učení (nestandardní využití korelační analýzy, analýzy rozptylu a kvantilových informací). Jsou navrženy metody aproximace empirických dat teoretickým rozdělením, definováno kritérium pro výběr vhodné aproximace a určeny odchylky jednotlivých aproximací. Kromě běžně užívaného normálního rozdělení je demonstrováno využití exponenciálního, Weibullova a Coxova fázového rozdělení.

Součástí práce je návrh nových metod vyhodnocení vycházejících ze standardně užívaných metod a z formulace procesu učení. Jedná se o vyhodnocení dle atributu úspěšnost a dle atributu doba. Zcela novým přístupem je hodnocení procesu učení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné veličiny (na základě určování statistické vzdálenosti). Současně je navrženo využití informačního přínosu jednotlivých testů experimentu, vydatnosti a kvality učení. Také je určen vliv nevyužití apriori informace, provedena citlivostní analýza na množství dat a určeny chyby jednotlivých metod a měření.

Závěrem je pro odborníky sestaven doporučený způsob vyhodnocování experimentů a popisu procesu učení s minimálním a zásadním zásahem do jimi užívaných standardních metod. Pro získání co nejpřesnějšího popisu procesu učení je doporučeno využití znalosti apriori měření, provedení korelační analýzy a analýzy citlivosti na faktory (a následné potřebné rozdělení naměřených dat). Jako další kroky lze provést porovnání několika možných aproximací měřených dat a vyhodnocení pomocí metod hodnocení v pravděpodobnosti a v jednotkách náhodné proměnné. Pro testy, kde je větší množství naměřených dat naakumulovaných k jedné hodnotě, byla jako vhodná rozdělení určena normální a Weibullovo rozdělení. Naopak v případech, kdy se měřené hodnoty více rozptylují v daném intervalu je vhodné využít Coxova fázového rozdělení. Jako poslední krok je doporučeno využití standardních metod testování hypotéz (U-test, t-test či ANOVA).

## Summary

The thesis deals with measurement and evaluation methods for experiments conducted on animal models. The analyses are focused on experiments of inbred mouse strains' motor and spatial learning in association with research on neurodegenerative diseases. The system representation of the learning process is described in relation with the performed error analysis, necessary for the evaluation of the tested hypotheses using common methods of hypotheses testing. A classification criterion is proposed for proper decomposition of the dataset.

The thesis presents the inadequacies of standard measurement and evaluation methods and proposes possible innovations in gathering information for comprehensive evaluations of experiments and learning processes (e.g., non-standard use of correlation analysis, analysis of variance and quantile information, etc.). Approximation methods of empirical distributions are designed, a criterion for the selection of appropriate approximations is defined and deviations of used approximations are identified. In addition to the commonly used normal distribution, the exponential, Weibull and Cox phase distributions are explored.

Part of this work focuses on the derivation of new evaluation methods from standard methods using the learning process formulation. The attribute success and the attribute time are the basis of this evaluation. Novelty of this approach lies in the evaluation of the learning process in probability and physical units of random variables (via determination of the statistical distance). Proposed are also means of better utilising informational innovations of individual experimental tests, yield and learning quality. Effects of a priori information omissions are determined, sensitivity analysis with respect to the size of the data set is performed and errors of methods and measurements are identified.

The primary outcomes are protocols for the evaluation of experiments and learning process descriptions that bare either fundamental or minimal differences from standard solutions. To increase the accuracy of the learning process description, one should use information regarding a priori measurements and perform correlation analysis and sensitivity analysis with respect to critical factors (required for subsequent separation of measured data). In addition, one should compare possible approximations of the measured data and evaluate the results using methods based on statistical distance. The Weibull and normal distribution are found to be appropriate for tests with larger amount of measured data accumulated to one value; the Cox phase distributions were found to be appropriate for tests where the measured data are more scattered. Lastly, a collection of appropriate standard hypothesis tests are recommended (e.g., U-test, t-test or ANOVA).

## Kurzfassung

Die Arbeit befasst sich mit den Methoden des Messens und der Auswertung von Experimenten, die auf den Tiermodellen durchgeführt werden. Analysen sind auf die Experimente des motorischen und räumlichen Lernens des inbreder Mausstammes gezielt, die mit der Forschung der neurodegenerativen Krankheiten verbunden ist. Im Zusammenhang mit der durchgeführten Fehleranalyse der angegebenen Methoden wird das System beschrieben, das das Lernprozess definiert und das für die Auswertung der Untersuchungshypothesen notwendig ist (zusammen mit Verwendung der standarden Methoden der Hypothesenprüfung). Für die richtige Aufteilung des Datenbestands wird das Klassifikationskriterium vorgeschlagen.

In der Arbeit werden die Mängel des Messens und der standarden Auswertungsmethoden angegeben und weiter auch die eventuellen innovativen Fortgänge des Informationsgewinns, die für komplexe Auswertung des Experiments und das Lernprozess (nicht standarder Einsatz der Korrelationsanalyse, Varianzanalyse und Quantileninformationsanalyse) geeignet sind. Es werden die Annäherungsmethoden der empirischen Daten durch die theoretische Aufteilung vorgeschlagen, das Kriterium für Auswahl der geeigneten Näherung definiert und die Abweichungen der einzelnen Näherungen bestimmt. Außer des üblich benutzten Normalverteilung wird die Nutzung der exponentiellen, Weibull- und Cox- Phasenverteilung demonstriert.

Ein Bestandteil der Arbeit ist der Entwurf von neuen Auswertungsmethoden, die aus den standard benutzten Methoden und der Formulierung des Lernprozesses ausgehen. Es handelt sich um die Auswertung nach den Attributen – Erfolg und Frist. Ein ganz neuer Ansatz ist die Bewertung des Lernprozesses in der Wahrscheinlichkeit und in den Einheiten der Zufallsgröße (aufgrund der Bestimmung der statistischen Distanz). Zugleich wird der Einsatz des Informationsbeitrags von den einzelnen Testen des Experiments, der Ausgiebigkeit und Qualität des Lernens vorgeschlagen. Es wird auch der Einfluss der Nichtanspruchnahme der Aprioriinformation bestimmt, die Empfindlichkeitsuntersuchung für die Angabenmenge durchgeführt und die Fehler der einzelnen Methoden und Messungen bestimmt.

Abschließend ist für die Spezialisten ein empfohlener Fortgang der Experimentenauswertung und Beschreibung des Lernprozesses mit dem minimalen und grundsätzlichen Eingriff in den von ihnen standard benutzten Methoden zusammengestellt. Für den Gewinn von der möglichst exakten Beschreibung des Lernprozesses wird die Nutzung der Kenntnisse des Apriorimessens, Durchführung von Korrelationsanalyse und Faktorenempfindlichkeitsanalyse empfohlen (und die folgende notwendige Aufteilung der gemessenen Angaben). Als weitere Schritte kann man einige mögliche durch Näherung gemessene Angaben vergleichen und sie durch die Methoden der Auswertung in der Wahrscheinlichkeit und in den Einheiten der Zufallsvariablen auszuwerten.

Für die Teste, wo eine größere Anzahl der Messdaten um einem Wert akkumuliert ist, wurde als die geeignete Aufteilung die Weibull- und normale Aufteilung bestimmt. Dann die Cox-Phasenaufteilung wurde für die Teste bestimmt, wo die Messdaten mehr verstreuen sind. Als der letzte Schritt wird die Nutzung von den standarden Methoden der Hypothesenprüfung (U-Test, t-Test oder ANOVA) empfohlen.

## Literatura a použité zdroje

- [1] ALBUS, James S. A New Approach to Manipulator Control: The Cerebellar Model Articulation Controller. *Journal of Dynamic Systems, Measurement, and Control*. ASME, 1975, **97**(3), 220-227. ISSN 1528-9028.
- [2] ARLEO, Angelo a GERSTNER, Wulfram. Spatial Condition and Neuro-Mimetic Navigation: A Model of Hippocampal Place Cell Activity. *Biological Cybernetics*. Springer-Verlag: Berlín, 2000, **83**(3), 287-299. ISSN 0340-1200.
- [3] BALAKRISHNAN, Karthik, BOUSQUET, Olivier a HONAVAR, Vasant. Spatial Learning and Localization in Rodents: A Computational Model of the Hippocampus and its Implications for Mobile Robots. *Adaptive Behavior*. 1999, **7**(2), 173-216. ISSN 1059-7123.
- [4] BALKENIUS, Christian a MORÉN, Jan. Computational Models of Classical Conditioning: A Comparative Study. In: *From Animals to Animats 5: Proceedings of the Fifth International Conference on Simulation of Adaptive Behaviour*. Cambridge, MA: MIT Press, 1998, 348-353. ISBN 0-262-66144-6.
- [5] BEDNAŘÍK, Josef. Svalové dystrofie. *Neurologie pro praxi* [online]. Solen, 2004, **3** [cit. 1.4.2013]. ISSN 1213-1814. Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/neu/2004/03/03.pdf>
- [6] BROUSSARD, Dianne M. a KASSARDJIAN, Charles D.: Learning in a Simple Motor System. *Learning and Memory*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004, **11**(2), 127-136. ISSN 1072-0502.
- [7] CAREAU, Vincent C., BININDA-EMONDS, Olaf R.P., ORDONEZ, Genesis a GARLAND, Theodore Jr. Are Voluntary Wheel Running and Open-Field Behavior Correlated in Mice? Different Answers from Comparative and Artificial Selection Approaches. *Behavior Genetics*. Springer US, 2012, **42**(5), 830–844. ISSN 0001-8244.
- [8] CENDELÍN, Jan, KORELUSOVÁ, Ivana a VOŽEH, František. Preliminary Study of the Effect of Repeated Motor Training on Spatial Learning Ability in Adult Lurcher Mutant Mice. *Prague Medical Report*. Praha: Karolinum Press, 2007, **108**(1), 49–56. ISSN 1214-6994.
- [9] COX, David R. A Use of Complex Probabilities in the Theory of Stochastic Processes. *Mathematical Proceedings of The Cambridge Philosophical Society*. Cambridge University Press, 1955, **51**(2), 313-319. ISSN 0305-0041.
- [10] HÁTLE, Jaroslav a LIKEŠ, Jiří. *Základy počtu pravděpodobnosti a matematické statistiky*. 2. nezmen. vyd. Praha: SNTL, 1974. 463 s. ISBN 04-311-74.

- [11] HORÁČEK, Jiří a MOTLOVÁ, Lucie. Neurodegenerativní onemocnění. *Vesmír*. Praha: Vesmír, 1999, 78(6), 307-309. ISSN 0042-4544.
- [12] CHAN, Anthony W.S. a AGCA, Yuksel. Transgenic animal models of neurodegenerative diseases. In: CONN, Michael P. *Sourcebook of Models for Biomedical Research* [online]. Totowa: Springer (Humana Press), ©2008, s. 323-330 [cit 12.8.2009]. ISBN 978-1-59745-285-4. Dostupné z: <http://www.springer.com/medicine/internal/book/978-1-59745-285-4>. Dostupné z: <http://www.springer.com/medicine/internal/book/978-1-59745-285-4>.
- [13] *Innovative Solutions for Animal Behaviour Research*. Noldus Information Technology Catalog, 2008. Dostupné z: [http://www.kuoyang.com.tw/ftp/noldus/NIT\\_animal\\_catalog.pdf](http://www.kuoyang.com.tw/ftp/noldus/NIT_animal_catalog.pdf)
- [14] JANEČEK, Petr. *Metody modelování stochastických systémů diskrétních v úrovni zaměřené na energetiku*. Plzeň, 2011. 92 s. Disertační práce. Západočeská univerzita, Fakulta aplikovaných věd. Školitel Jiří Mošna.
- [15] KOUKOLÍK, František. *Lidský mozek*. Funkční systémy. Normy a poruchy. 2. aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Portál, 2002. 456 s. ISBN 80-7178-632-2.
- [16] LeDOUX, Mark. Animal Models and the Science of Movement Disorders. In LeDOUX, Mark. *Animal Models of Movement Disorders*. Burlington: Elsevier, 2005, s. 13-31. ISBN 0-12-088382-1.
- [17] MARSHALL, Adele H. a McCLEAN, Sally I. Using Coxian Phase-Type Distributions to Identify Patient Characteristics for Duration of Stay in Hospital. *Health Care Management Science*. Kluwer Academic Publishers. 2004, 7(4), 285-289. ISSN 1386-9620.
- [18] McDONALD, John H. *Handbook of Biological Statistics* [online]. Baltimore: Sparky House Publishing, 2008 [cit. 28.11.2008]. Dostupné z: <http://udel.edu/~mcdonald/statintro.html>
- [19] MĚKOTA, Karel a BLAHUŠ, Petr. *Motorické testy v tělesné výchově*. 1. vyd. Praha: SPN, 1983. 336 s. ISBN 14-467-83.
- [20] *Medical Advances and Animal Research*. The contribution of animal science to the medical Revolution: Some Case Histories [online]. RDS: Understanding Animal Research in Medicine and Coalition for Medical Progress. 2007 [cit. 22.01.2008]. Dostupné z: <http://www.pro-test.org.uk/MAAR.pdf>
- [21] MELOUN, Milan a MILITKÝ, Jiří. *Kompendium statistického zpracování dat* [online]. Metody a řešené úlohy včetně CD. Praha: Academia, 2002, 766 s. [cit. 28.10.2009]. ISBN 80-200-1008-4. Dostupné z: <http://meloun.upce.cz/docs/books/kompendium.pdf>

- [22] MORRIS, Richard. Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. [Amsterdam]: Elsevier. 1984, **11**, 47-64. ISSN 0165-0270.
- [23] MORSE, Herbert C. III. *Origins of Inbred Mice* [online]. Elsevier, 1978 [cit. 28.6.2012]. Dostupné z: <http://www.informatics.jax.org/morsebook/>
- [24] MOUSE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*. [London]: Nature, 2002, **420**(6915), 520-562. ISSN 0028-0836.
- [25] NAGELE, Peter. Misuse of standard error of the mean (SEM) when reporting variable of a sample. A critical evaluation of four anaesthesia journals. *British Journal of Anaesthesia* [online]. Oxford: Oxford University Press. 2003, **90**(4), 514-516 [cit. 1.12.2008]. ISSN 1471-6771. Dostupné z: doi:10.1093/bja/aeg087
- [26] PAPOULIS, Athanasios a PILLAI, S. Unnikrishna. *Probability, Random Variables, and Stochastic Processes*. 4th edi. New York: McGraw-Hill, 2002. 852 s. ISBN 0-07-366011-6.
- [27] PORRAS-GARCÍA, Elena, CENDELÍN, Jan, DOMÍNGUEZ-DEL-TORO, Eduardo, VOŽEH, František a DELGADO-GARCÍA, José M. Purkinje cell loss affects differentially the execution, acquisition and prepulse inhibition of skeletal and facial motor responses in Lurcher mice. *European Journal of Neuroscience*. [Malden: Wiley-Blackwell]. 2005, **21**(4), 979-988. ISSN 0953-816X.
- [28] REIF, Jiří: *Metody matematické statistiky*. 1. vyd. Plzeň: ZČU v Plzni, 2000. 286 s. ISBN 80-7082-593-6.
- [29] RESCORLA, Robert A. Contemporary Study of Pavlovian Conditioning. *The Spanish Journal of Psychology*. [Madrid]: Madrid Servicio de Publicaciones, Universidad Complutense de Madrid, 2003, **6**(2), 185-195. ISSN 1138-7416.
- [30] STEINBERGER, Daniela, REYNOLDS, David S., FERRIS, Pushpindar, LINCOLN, Rachael, DATTA, Susmita, STANLEY, Joanna, PATERSON, Andrea, DAWSON, Gerard R. a FLINT, Jonathan. Genetic Mapping of Variation in Spatial Learning in the Mouse. *The Journal of Neuroscience*. [Washington]: Society for Neuroscience, 2003, **23**(6), 2426-2433. ISSN 0270-6474.
- [31] STRASAK, Alexander M., ZAMAN, Qamruz, PFEIFFER, Karl P., GÖBEL, Georg a ULMER, Hanno. Statistical errors in medical research – a review of common pitfalls. *Swiss Medical Weekly* [online]. 2007, **137**(3-4), 44-49 [cit. 25.7.2012]. ISSN 1424-3997. Dostupné z: <http://www.smw.ch/docs/smw/archiv/pdf200x/2007/03/smw-11587.pdf>

- [32] ŠTENGLOVÁ, Vladimíra, CENDELÍN, Jan a VOŽEH, František. Pohled do nitra mozečku. *Vesmír*. Praha: Vesmír, 2004, **83**, 273-275. ISSN 0042-4544.
- [33] ŠVARC, Ivan. *Základy technické kybernetiky*. 2. přepracované vyd. Brno: VUT, 1987. 252 s. Celostátní učební texty vysokých škol č. 55-563/1-87.
- [34] THORSLEY, David a KLAVINS, Eric. Approximating Stochastic Biochemical Processes with Wasserstein Pseudometrics. *IET Systems Biology* [online]. Institution of Engineering and Technology - IET Research Journals. 2010, **4**(3), 193-211 [cit. 29.11.2010]. ISSN 1751-8857.
- [35] TOURETZKY, David S. a MULLER, Robert U. Place Field Dissociation and Multiple Maps in Hippocampus. *Neurocomputing*. [Amsterdam]: Elsevier, 2006, **69**(10-12), 1260-1263. ISSN 0925-2312.
- [36] ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE LF UK V PLZNI. *Patofyziologie mozečku* [online]. Výukové materiály k předmětu Neuropatofyziologie [cit. 11.9.2008]. Dostupné z: <http://www.lfp.cuni.cz/patofyziologie/materialy/mozecek.ppt>
- [37] ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE LF UK V PLZNI. *Patofyziologie učení a paměti* [online]. Výukové materiály k předmětu Neuropatofyziologie [cit. 11.9.2008]. Dostupné z: <http://www.lfp.cuni.cz/patofyziologie/materialy/uceni.ppt>
- [38] VALLANDER, Sergei S. Calculation of the Wasserstein Distance Between Probability Distributions on the Line [Вычисление расстояния по Вассерштейну между распределениями вероятностей на прямой]. *Theory of Probability and Its Applications* [online]. Z ruského do anglického jazyka přeložil S. M. Rudolfer. Society for Industrial and Applied Mathematics, 1974 [online publikováno 28.7.2006], **18**(4), 784-786, [cit. 10.12.2010]. ISSN 1095-7219. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1137/1118101>
- [39] VOKURKA, Martin, HUGO, Jan a kol. *Velký lékařský slovník* [online]. Maxdorf, 4. revidované vydání, 2004, 966 s. [cit. 15.3.2013]. ISBN 80-7345-037-2. Dostupné z: <http://lekarske.slovníky.cz/>
- [40] ŽAMPA, Pavel. *Základy nové teorie systémů*. Plzeň, 1995. 103 s. Habilitační práce. Západočeská univerzita, Fakulta aplikovaných věd.
- [41] ŽIDOVSÁ, Jana, UHROVÁ, Tereza, ROTH, Jan a KLEMPÍŘ, Jiří. Huntingtonova nemoc: (gen)etické problémy a úskalí [online]. *SANQUIS*. Audabiac, 2005, **37**, 28 [cit. 14.3.2013]. ISSN 1212-6535. Dostupné z: <http://www.sanquis.cz/index2.php?linkID=art441>



- [42] Functional and Comparative Genomics Fact Sheet. *The Human Genome Project*. [online]. U.S. Department of Energy Genome Programs ©2012. Poslední změna 24.08.2011 [cit. 28.03.2012]. Dostupné z: [http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human\\_Genome/faq/compgen.shtml#whymice](http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/compgen.shtml#whymice)
- [43] *Understanding Animal Research* [online]. [Cit. 22.3.2009] Dostupné z: <http://www.understandinganimalresearch.org.uk/>

## Vlastní publikace

- JINDRA, Pavel, VENIGOVÁ, Petra, HOUDOVÁ, Lucie a STEINEROVÁ Kateřina. A novel HLA-A null allele (A\*02:395N) with stop codon in exon 2 generated by single nucleotide exchange. *Tissue Antigens*. John Wiley & Sons, 2013, **81**(6), 451-452.
- ZÁPOTOCKÁ Andrea a HOUDOVÁ Lucie. *Vliv MDM na zlepšení zdravotního stavu pacienta při léčbě chronické bolesti*. Plzeň: ZČU, 2013. Výzkumná zpráva.
- ZÁPOTOCKÁ Andrea a HOUDOVÁ Lucie. *Vliv MDM na zlepšení zdravotního stavu pacienta při léčbě erektilní dysfunkce*. Plzeň: ZČU, 2013. Výzkumná zpráva.
- BALÁK, Oldřich, FATKA, Jiří a HOUDOVÁ, Lucie. *Integrace registru do komunikace EMDIS [ověřená technologie]*. 2012.
- PRŮCHA, Ondřej, HOUDOVÁ Lucie . *Aplikace pro HLA Laboratoř a TC (CELAB a CETRA) [software, manuál k software]*. 2012.
- FETTER, Miloš, HOUDOVÁ Lucie, BALÁK, Oldřich a PRŮCHA, Ondřej. *Databázový model informačního systému registru (ČNRDD)*. Plzeň: ZČU, 2012. Výzkumná zpráva.
- GEORGIEV Daniel, HOUDOVÁ Lucie. *Metody pro vyhledávání dárce ČNRDD - návrh, algoritmizace a ověřování*. Plzeň: ZČU, 2012. Výzkumná zpráva.
- GEORGIEV Daniel, HOUDOVÁ Lucie. *MADORA - Marrow Donor Registry Analytics [software]*. 2011.
- HOUDOVÁ Lucie, GEORGIEV Daniel a JANEČEK E. *Analýza nad zdroji dat dárců kostní dřeně*. Plzeň: ZČU, 2011. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie, GEORGIEV Daniel. *Návrh metod pro vyhledávání dárce (ČNRDD)*. Plzeň: ZČU, 2011. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie. *Program pro dárcovská centra [software, manuál k software]*. 2011.
- HOUDOVÁ Lucie a HAJŠMAN VÁCLAV. *Procesy registru dárců kostní dřeně (ČNRDD)*. Plzeň: ZČU, 2011. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie. Rozvoj IT podpory vyhledávání dárce pro transplantaci kostní dřeně. In: *Diagnostika, léčba a prevence závažných civilizačních onemocnění*. Plzeň: Euroverlag, s.r.o., 2010, 36. ISBN 978-80-7177-034-3.
- ZÁPOTOCKÁ Andrea, JANEČEK Eduard a HOUDOVÁ Lucie. *Analýza navýšení technických potřeb (rozsahu) sekundární a terciální regulace v závislosti na nově instalovaném výkonu ve fotovoltaických zdrojích*. Plzeň: ZČU, 2010. Výzkumná zpráva.

- JANEČEK Eduard, ZÁPOTOCKÁ Andrea a HOUDOVÁ Lucie. *Metodika stanovení rozsahu regulačních záloh v přenosové soustavě s masivně instalovanými fotovoltaickými zdroji*. Plzeň: ZČU, 2010. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie. Evaluation and error models of experimental data from laboratory research of neurodegenerative diseases. In: *Proceedings of the Seventh IASTED International Conference on Biomedical Engineering*. Calgary: ACTA Press, 2010, 21-28. ISBN 978-0-88986-825-0.
- JIRSOVÁ Lenka, HOUDOVÁ Lucie, JELÍNEK Libor a JANEČEK Eduard. Approach to Solving the Task of Availability Prediction and Cost Optimization of a Steam Turbine. In: *Proceedings of the ITI 2010*. Zagreb: SRCE, University of Zagreb, 2010, 629-634. ISBN 978-953-7138-18-9.
- HOUDOVÁ Lucie. Error Analysis for Learning Process Modeling. In: *Recent Advances in Numerical Modelling*. Warsaw: Electrotechnical Institute Publishing House, 2009, 63-68. ISBN 978-83-922095-8-4.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Eduard a JANEČEK Petr. *SESyS2008: MC50* [manuál k software]. Plzeň: ZČU, 2009. Výzkumná zpráva.
- ČERNÝ Václav, FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Petr a JANEČEK Eduard. Relationship between Production Capacity of Wind Power Stations and Needs of Ancillary Services. In: *International conference on Environment and electrical engineering*. Polsko: Wroclaw University of Technology, 2009. ISBN 978-3-940471-10-9.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie a JANEČEK Eduard. *Model VtE*. Plzeň: ZČU, 2009. Výzkumná zpráva.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie a JANEČEK Eduard. *Testování modelu VtE*. Plzeň: ZČU, 2009. Výzkumná zpráva.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Eduard a JANEČEK Petr. *Vliv predikce vyrobené větrné energie*. Plzeň: ZČU, 2009. Výzkumná zpráva.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie a JANEČEK Eduard. *Analýza časových řad provozu ES ČR s ohledem na okolní vlivy*. Plzeň: ZČU, 2008. Výzkumná zpráva.
- JANEČEK Eduard, FIALOVÁ Andrea, JANEČEK Petr a HOUDOVÁ Lucie. *Návrhy predikce systémové odchylky*. Plzeň: ZČU, 2008. Výzkumná zpráva.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Eduard a JANEČEK Petr. *Analýza predikce systémové odchylky*. Plzeň: ZČU, 2008. Výzkumná zpráva.

- JANEČEK Eduard, JANEČEK Petr, FIALOVÁ Andrea a HOUDOVÁ Lucie. *Prediktor systémové odchylky*. Plzeň: ZČU, 2008. Výzkumná zpráva.
- JANEČEK Eduard, JANEČEK Petr, FIALOVÁ Andrea a HOUDOVÁ Lucie. *Prediktor systémové odchylky*. [software]. 2008.
- FIALOVÁ Andrea, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Eduard a JANEČEK Petr. *Zahrnutí variability výroby větrné energie do modelu SESyS*. Plzeň: ZČU, 2008. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie. Classical Conditioning Modelling. In: *Proceedings of the Sixth IASTED International Conference on Biomedical Engineering*. Calgary: ACTA Press, 2008, 167-171. ISBN 978-0-88986-721-5.
- JANEČEK Petr, HOUDOVÁ Lucie a JANEČEK Eduard. *Model výpadků pro analytické výpočty*. Plzeň: ČEPS, a.s., 2007. Výzkumná zpráva.
- JANEČEK Petr, HOUDOVÁ Lucie, JANEČEK Eduard a NOVÁK Ondřej. *Model výpadků pro analytické výpočty a simulace*. Plzeň: ZČU, 2007. Výzkumná zpráva.
- HOUDOVÁ Lucie. Associative Learning Model Connected With the Performed Experiment. In: *The 1st Young Researchers Conference on Applied Sciences*. Plzeň: ZČU, 2007. 180-185. ISBN 978-80-7043-574-8.

## Vysvětlivky lékařských termínů

Definice jsou převzaty z [39], pokud není uvedeno jinak.

Alzheimerova nemoc	progresivní neurodegenerativní onemocnění nervové soustavy, nejčastější příčina demence; postiženy jsou funkce významné pro paměť a kognitivní činnosti (poruchy výkonných funkcí, orientace, citů, motivace apod.)
ataxie	porucha hybnosti způsobená onemocněním nervového systému (např. mozečku), projevuje se nesouměrností pohybů a jejich špatnou koordinací
behaviorální	týkající se chování
cerebelitida	zánět mozečku [36]
cystická fibróza	dědičné onemocnění žláz se zevní sekrecí; defektní transport iontů zvyšuje viskozitu sekretů exokrinních žláz
diabetes	běžný název pro cukrovku (lat. diabetes mellitus); onemocnění způsobené nedostatkem inzulínu nebo jeho malou účinností
embryonální	týkající se zárodku (embrya), resp. zárodečného vývoje
excitabilita CNS	vzrušivost, dráždivost centrální nervové soustavy
genom	soubor všech struktur nesoucích genetickou informaci ve formě DNA
hereditární spinocerebelární degenerace	dědičný úbytek až ztráta specializované funkce buněk, tkáně či orgánu týkající se páteřní míchy a mozečku
Huntingtonova nemoc	poměrně vzácné dědičné onemocnění CNS; projevuje se postižením hybným (především mimovolní pohyby), kognitivním (demence) a psychiatrickým (především poruchy chování, změny osobnosti, afektivní poruchy) [41]
in vitro	lat. „ve skle“, tj. ve zkumavce, za umělých, laboratorních podmínek
inbrední jedinci (myši)	jedinci pěstovaní trvalým křížením úzce spřízněných jedinců, speciálně k zachování žádoucích znaků (např. určité genetické mutace) [23]
Lurcher myš	přírozený zvířecí model neurodegenerace mozečku (postižené přírodní mutací genu pro $\delta 2$ -glutamátový receptor) [36]
mozeček	lat. cerebellum, část zadního mozku uložená v týlní oblasti dutiny lebeční; podílí se výlučně na kontrole motoriky, zejména na koordinaci naučených volných pohybů, na kontrole svalového napětí, chůze a postoje, účastní se činností, které jsou podkladem poznávacích funkcí a emotivity [15]

---

MWM	Morrisovo vodní bludiště (Morris Water Maze) [22] - jedna z nejvíce používaných metod behaviorálních neurověd pro zkoumání psychologických procesů a nervových mechanismů prostorového učení a paměti
neurodegenerace	úbytek až ztráta specializované funkce buněk ve vztahu k nervu či nervovému systému
Parkinsonova nemoc	onemocnění nervového systému mozku, jehož nápadným příznakem je převážně klidový třes; současně je zvýšená svalová ztuhlost, pohybová chudost, změněná řeč apod.
revmatoidní artritida	zánětlivé chronické autoimunitní onemocnění kloubů
roztoušená skleróza	r.s. mozkomíšní, lat. sclerosis multiplex, chronické onemocnění CNS charakterizované demyelinizací; příznaky závisejí na poškozeném místě v nervové soustavě a mohou být velmi pestré, průběh nemoci je kolísavý
srpkovitá anemie	dědičné onemocnění, při němž je v červených krvinkách abnormální hemoglobin S; krvinky srpkovitého tvaru mají porušenou funkci, jejich nadměrné shlukování v tkáních vede k místním poruchám prokrvení
svalové dystrofie	genetická onemocnění, které zasahují svalstvo (projevují se svalovou slabostí, ochabováním/úbytkem svalstva) [5]

---

## A Popis konkrétních experimentů a datového souboru

V následující části práce je nejprve uveden popis experimentů, ze kterých jsou získána výstupní data. Jsou zde popsány konkrétní metody a typy testů v daných dnech pokusu. Poté následuje ukázka výsledného datového souboru a rozdělení souboru dle významných faktorů.

### A.1 Vliv podávání SCH 23390 na prostorové učení

Metodou experimentu bylo testování v MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V), ostrůvek byl standardně v JZ kvadrantu. Testování schopností jedinců inbredních kmenů C3H a C57Bl/7 v závislosti na podané látce probíhalo v tomto sledu:

- 1.-6. den – s aplikací látek SCH (blokátor dopaminových receptorů), SKF (látka dráždící dopaminové receptory a FR (neutrální fyziologický roztok)
  - dávky SCH na 100 g tělesné hmotnosti: 0.5 mg, 0.05 mg a 0.01 mg, roztok (ředěno vodou)
  - dávka SKF v koncentraci 0.5 ml/100 g tělesné hmotnosti
  - kontrola: fyziologický roztok FR 0.5 ml/100 g tělesné hmotnosti

Látka byla aplikována 20 minut před 1. startem, mezi starty myš odpočívala 90 s v krabici. Měřena byla latence  $t_{L,start}$  (doba k nalezení ostrůvku v JZ kvadrantu po každém startu).

- 8. den – probe trial, bez aplikace látky  
Myš strávila 60 s v bludišti bez ostrůvku, byl měřen čas strávený v JZ kvadrantu. Proběhly pouze dva starty (S a V).
- závěrem provedeny testy na epilepsii.

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 281 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno identifikační číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, věk a váha, přítomnost genetické poruchy, informace o podané látce a dávce této látky, poté doby dosažení ostrůvku po jednotlivých startech a stupeň epileptické reakce.

Hypotézou experimentu je: *Při podávání blokátoru SCH dojde k poklesu motorické koordinace a kognitivních schopností u obou pozorovaných kmenů.* Tzn. že postupem doby trvání experimentu se budou projevovat čím dál tím větší rozdíly v učení u porovnávaných skupin. Lze předpokládat, že největší nárůst učení se bude vyskytovat ve skupině s aplikovaným SKF a nejmenší s blokátorem SCH. V následující tabulce A.1 je uveden počet jedinců ve skupinách, definovaných dle předpokládaných ovlivňujících faktorů:

kmen	genetická porucha	látka	mohutnost dle dávky			mohutnost souboru
			0.5 ml	0.05 ml	0.01 ml	
C57	Wild	SCH	18 (11 x 7)	9 (5 x 4)	10 (5 x 5)	<b>37</b>
C57	Wild	FR	16 (9 x 7)	0	0	<b>16</b>
C57	Wild	SKF	14 (8 x 6)	0	0	<b>14</b>
C57	Lurcher	SCH	20 (7 x 13)	15 (4 x 11)	14 (2 x 12)	<b>49</b>
C57	Lurcher	FR	21 (9 x 12)	0	0	<b>21</b>
C57	Lurcher	SKF	13 (4 x 9)	0	0	<b>13</b>
C3H	Wild	SCH	19 (9 x 10)	12 (6 x 6)	11 (5 x 6)	<b>42</b>
C3H	Wild	FR	23 (11 x 12)	0	0	<b>23</b>
C3H	Wild	SKF	8 (5 x 3)	0	0	<b>8</b>
C3H	Lurcher	SCH	16 (8 x 8)	10 (5 x 5)	11 (5 x 6)	<b>37</b>
C3H	Lurcher	FR	16 (8 x 8)	0	0	<b>16</b>
C3H	Lurcher	SKF	5 (2 x 3)	0	0	<b>5</b>

Tab. A.1: Faktory experimentu vlivu SCH 23390 na prostorové učení

Číselný údaj 18 (11 x 7) značí zastoupení 11 jedinců mužského pohlaví a 7 jedinců ženského.

## A.2 Vliv podávání SCH 23390 aktivního a SCH 23388 neaktivního

Metodou experimentu bylo testování v MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V), ostrůvek byl standardně v JZ kvadrantu. Testování schopností jedinců kmene C57Bl/7, typu Wild a mutantního typu Lurcher, probíhalo ve dvou variantách (v závislosti na variantě podané látky SCH):

- varianta aktivní/neaktivní = 1.-4. den podána látka SCH 23390 (a), 5.-8. den SCH 23388 (n)
- varianta neaktivní/aktivní = 1.-4. den podána látka SCH 23388 (n), 5.-8. den SCH 23390 (a)

Obě látky byly podávány v dávce 0.05 mg/100 g tělesné hmotnosti a aplikovány intraperitoneálně 20 minut před 1. startem. Systémem Ethovision<sup>6</sup> byla registrována průměrná latence  $t_L$  (ze 4 startů v daném dni), uplavaná dráha  $s$  a rychlost  $v$ .

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 38 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, přítomnost genetické poruchy (mutace), informace o zvolené variantě a měřené údaje.

Hypotézou experimentu je: *Při podávání aktivního blokátoru SCH 23390 dochází k pomalejšímu nárůstu motorické koordinace a kognitivních schopností u obou pozorovaných typů*

<sup>6</sup>Noldus software [13]



*jedinců*. Jedinci typu Lurcher oproti typu Wild vykazují limitaci řízení motoriky, kognitivních procesů a emotivity. V tabulce A.2 je uveden počet jedinců ve skupinách, definovaných dle předpokládaných ovlivňujících faktorů:

typ mutace	varianta podání látky		mohutnost souboru
	1. – 4. den	/ 5. – 8. den	
Wild	aktivní	/ neaktivní	<b>11</b> (6 x 5)
Wild	neaktivní	/ aktivní	<b>11</b> (5 x 6)
Lurcher	aktivní	/ neaktivní	<b>8</b> (4 x 4)
Lurcher	neaktivní	/ aktivní	<b>8</b> (4 x 4)

Tab. A.2: Faktory experimentu vlivu podávání SCH 23390 aktivního a SCH 23388 neaktivního

### A.3 Prostorové učení kmene C3H se značkou na ostrůvku

Metodou experimentu bylo testování v MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V). Testování schopností jedinců kmene C3H, typu Wild a mutantního typu Lurcher, probíhalo ve sledu:

- 1.-4. den – ostrůvek se značkou umístěn v JZ kvadrantu
- 5. den – ostrůvek se značkou umístěn v SV kvadrantu

Testy prováděné s tímto kmenem jsou ovlivněny faktorem slepoty. Systémem Ethovision byla registrována průměrná latence  $t_L$ , délka dráhy  $s$  a průměrná rychlost  $v$ .

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 184 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, identifikace jedince, identifikace histologická, datum narození, přítomnost genetické mutace, informace o slepotě a měřené údaje.

Hypotézou experimentu je: *Slepotá má vliv na kognitivní schopnosti u obou pozorovaných typů jedinců*. V tabulce A.3 je uveden počet jedinců ve skupinách, definovaných dle předpokládaných ovlivňujících faktorů:

### A.4 Zraková orientace kmenů C3H a C57Bl/7

Metodou experimentu bylo MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V). Testování schopností jedinců kmene C3H a C57Bl/7, obou typu Wild a mutantního typu Lurcher, probíhalo ve sledu:

- 1.-5. den – vynořený ostrůvek zviditelněný značkou, pozice ostrůvku se mění

typ mutace	slepota	mohutnost souboru
Wild	ano	<b>36</b> (10 x 26)
Wild	ne	<b>23</b> (13 x 10)
Wild	NA <sup>7</sup>	<b>52</b> (0 x 52)
Lurcher	ano	<b>14</b> (9 x 5)
Lurcher	ne	<b>27</b> (13 x 14)
Lurcher	NA	<b>32</b> (32 x 0)

Tab. A.3: Faktory experimentu vlivu značky na ostrůvku na prostorové učení kmene C3H

- 8.-12. den – ostrůvek skrytý, trvale v JZ kvadrantu

Testy prováděné s kmenem C3H jsou ovlivněny faktorem slepoty. Měřena byla latence  $t_{L,start}$  (doba k nalezení ostrůvku po každém *startu*).

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 30 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, přítomnost genetické mutace, informace o slepotě a poté naměřené hodnoty.

Hypotézou experimentu je: *Slepota má vliv na kognitivní schopnosti jedinců.* V tabulce A.4 je uveden počet jedinců ve skupinách, definovaných dle předpokládaných ovlivňujících faktorů:

kmen	typ mutace	slepota	mohutnost souboru
C57	Wild	ne	<b>11</b> (5 x 6)
C57	Lurcher	ne	<b>4</b> (2 x 2)
C3H	Wild	ano	<b>2</b> (1 x 1)
C3H	Wild	ne	<b>5</b> (2 x 3)
C3H	Lurcher	ano	<b>5</b> (1 x 4)
C3H	Lurcher	ne	<b>3</b> (1 x 2)

Tab. A.4: Faktory experimentu vlivu zrakové orientace na prostorové učení

## A.5 Srovnání schopností kmenů C3H a C57Bl/7

Tento experiment byl zaměřen na testování nervových funkcí myši především mužského pohlaví kmene C3H a C57Bl/7. Testy prováděné s kmenem C3H jsou ovlivněny faktorem slepoty. Funkce byly testovány několika způsoby: testy v MWM (se změnami počátečních podmínek, max. 60 s plavání pro nalezení ostrůvku, 30 s na ostrůvku, mezi starty cca 5 minut přestávky – střídají se 4 myši), metodou open-field, motorickými testy na hrazdě, žebříku a válci. Závěrem byly provedeny testy epileptické reakce. Testování bylo provedeno dle následujícího časového harmonogramu:

- 1.-9. den – MWM: 4 starty denně (S, J, Z, V), ostrůvek trvale ve středu JZ kvadrantu skrytý pod hladinou
- 10. den – MWM: 4 starty denně (V, Z, J,S) ostrůvek ve středu JZ kvadrantu skrytý pod hladinou
- 11.-12. den – MWM: 4 starty denně (S, J, Z, V) ostrůvek ve středu SV kvadrantu skrytý pod hladinou
- 22.-25. den – MWM: ostrůvek ponořený, označený praporkem, JZ kvadrant, starty S, J, Z, V
- 26. den – MWM: ostrůvek ponořený, označený praporkem, SV kvadrant, starty S, J, Z, V
- 28. a 29. den – open-field: myš vložena do středu čtvercové arény 40 cm x 40 cm a ponechána v aréně 5 minut
- 30. a 31. den – motorika: hrazda, žebřík (hlavou nahoru), válec (hlavou po směru rotace), kritérium 60 s, vše opakováno 4x v každé sérii
- 32. den – provedeny testy na epilepsii.

Systémem Ethovision byla registrována při testech v MWM průměrná latence  $t_L$ , délka dráhy  $s$ , průměrná rychlost  $v$ , doba strávená ve středu bludiště (časově i relativně), časový údaj prvního vstupu do středu, při open-fieldu ušlá dráha  $s$  za 5 minut a doba strávená v periférii (časově i relativně). Při motorických testech  $t_L$  doba strávená na nářadí.

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 44 záznamů, kde kromě již uvedených výstupů jednotlivých testů je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, věk, přítomnost genetické mutace, identifikace histologie, informace o slepotě a stupeň epileptické reakce.

Hypotézou experimentu je: *Jedinci kmenů C3H a C57Bl/7 mají odlišné motorické a kognitivní schopnosti.* V tabulce A.5 je uveden počet jedinců ve skupinách, definovaných dle předpokládaných ovlivňujících faktorů:

Tento experiment byl navržen tak, aby mohla být testovaná uvedená hypotéza, avšak nebyl realizován v dostatečném rozsahu (v datovém souboru jsou pouze 4 jedinci kmene C57) a tudíž není možné tuto hypotézu testovat. Byla navržena alternativní nulová hypotéza, a to: *Jedinci kmene C3H typu Lurcher mají odlišné motorické a kognitivní schopnosti než jedinci typu Wild.*

kmen	typ mutace	slepota	mohutnost souboru
C57	Wild	ne	4(4 x 0)
C57	Lurcher	ne	0
C3H	Wild	ano	20(15 x 5)
C3H	Wild	ne	5 (5 x 0)
C3H	Lurcher	ano	11 11 x 0
C3H	Lurcher	ne	4

Tab. A.5: Faktory experimentu srovnání schopností kmenů

## A.6 Vliv transplantace na motorické schopnosti

Tento experiment byl zaměřen na testování motorických schopností myších jedinců kmene C3H a C57Bl/7 po transplantaci embryonálního mozečkového transplantátu. Testy prováděné s kmenem C3H jsou ovlivněny faktorem slepoty. Motorické schopnosti byly testovány několika způsoby: v open-fieldu, na hrazdě, žebříku a válci, konkrétně:

- před operací a 2.-10. týden po operaci – motorika: hrazda, žebřík (hlavou nahoru), válec (hlavou po směru rotace), kritérium 60 s, vše opakováno 4x v každé sérii
- 3., 6. a 9. týden po operaci – open-field: myš vložena do středu čtvercové arény 40 cm x 40 cm a ponechána v aréně 5 minut
- závěrem provedeny testy na epilepsii

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 184 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedena identifikace jedince, identifikace histologie, kmen jedince, jeho pohlaví, přítomnost genetické poruchy, informace o slepotě, o typu operace, úspěšnosti a datu operace, informace o dárci, operatérovi a asistentovi operace.

Uvedenými výstupy testů je v případě hrazdy, žebříku a válce doba strávená na nářadí  $t_L$ . Při testu v open-field je měřena délka dráhy uražené za 5 minut pobytu v aréně, celková délka pobytu v periferní zóně (mimo středový čtverec) a doba prvního vstupu na periferii v sekundách. Pokud myš na periferii vůbec nevstoupila, doplňuje se údaj 300 s.

V tab. A.6 je naznačeno zaměření na vybrané faktory daného pokusu a uveden počet jedinců v dané skupině:

Úspěšnost transplantace byla hodnocena dle přežití transplantátu, tj. živý transplantát (1), neúspěšná transplantace (0), zbytkový transplantát (0/1 nebo 1/0). U kontrolních jedinců se tato informace neuvádí. Poznamenejme, že typ operace (tr) byl především transplantace kousku tkáně či se jednalo o kontrolní vzorek (k).

Hypotézou experimentu je: *Při transplantaci embryonální tkáně mozečku dojde k obnově motorických schopností.*

typ mutace	slepota	provedení transpl.	mohutnost dle úspěchu transpl.				mohutnost souboru
			0	0/1, 1/0	1	NA	
Wild	ne	transpl.	0	1 (1 x 0)	19 (19 x 0)	8 (8 x 0)	<b>28</b>
Wild	ne	kontrola	—	—	—	—	<b>0</b>
Lurcher	ne	transpl.	10 (5 x 5)	3 (0 x 3)	10 (8 x 2)	8 (3 x 5)	<b>31</b>
Lurcher	ne	kontrola	—	—	—	11 (4 x 7)	<b>11</b>
Wild	ano	transpl.	4 (3 x 1)	1 (1 x 0)	15 (12 x 3)	1 (1 x 0)	<b>21</b>
Wild	ne	transpl.	4 (4 x 0)	5 (5 x 0)	0	0	<b>9</b>
Wild	NA	transpl.	0	0	2 (2 x 0)	8 (8 x 0)	<b>10</b>
Wild	ano	kontrola	—	—	—	—	<b>0</b>
Wild	ne	kontrola	—	—	—	—	<b>0</b>
Wild	NA	kontrola	—	—	—	—	<b>0</b>
Lurcher	ano	transpl.	11 (2 x 9)	2 (0 x 2)	9 (4 x 5)	0	<b>22</b>
Lurcher	ne	transpl.	2 (0 x 2)	0	4 (3 x 1)	0	<b>6</b>
Lurcher	NA	transpl.	6 (1 x 5)	2 (0 x 0)	6 (3 x 3)	1 (1 x 0)	<b>18</b>
Lurcher	ano	kontrola	—	—	—	11 (3 x 8)	<b>10</b>
Lurcher	ne	kontrola	—	—	—	5 (0 x 5)	<b>5</b>
Lurcher	NA	kontrola	—	—	—	13 (7 x 6)	<b>13</b>

Tab. A.6: Faktory experimentu vlivu transplantace na motorické schopnosti

V průběhu experimentu uhynulo několik jedinců ( 1 kmene C3H, typu Wild s provedenou transplantací a neuvedenou informací o slepotě a 2 kmene C3H, typu Lurcher s provedenou transplantací a neuvedenou informací o slepotě).

## A.7 Vliv transplantace mozečku na nervové funkce trénovaných / netrénovaných jedinců

Tento experiment je experimentem demonstrativním a jako takový je podrobně popsán v kapitole 6.1. V tab. A.7 je naznačeno zaměření na vybrané faktory daného pokusu a uveden počet jedinců v dané skupině:

provedení transpl.	typ tréninku	mohutnost dle úspěchu transpl.			mohutnost souboru
		0	1	NA	
transplantace	žádný	6 ( 6 x 0 )	19 (8 x 11)	19 (8 x 11)	<b>44</b>
transplantace	plavání	3 (2 x 1)	15 (7 x 8)	0	<b>18</b>
transplantace	válec	1 (0 x 1)	6 (2 x 4)	19 (10 x 6)	<b>26</b>
kontrola	žádný	—	—	26 (8 x 18)	<b>26</b>
kontrola	plavání	—	—	10 (8 x 2)	<b>10</b>
kontrola	válec	—	—	20 (8 x 12)	<b>20</b>

Tab. A.7: Faktory experimentu vlivu transplantace na nervové funkce

V tomto případě buď byla provedena transplantace (tr) kousku tkáně či se jednalo o

kontrolní vzorek (k), úspěšnost transplantace hodnocena též dle přežití transplantátu – živý transplantát (1), transplantát nenalezen (0) či tato informace nebyla uvedena (NA). Během experimentu došlo k úhynu 1 samice s provedenou transplantací trénovanou na válci a s neuvedenou informací o úspěchu transplantace. U 3 jedinců v této skupině nebylo uvedeno pohlaví.

## A.8 Vliv chronického působení vysokofrekvenčního pole

Tento experiment byl zaměřen na testování nervových funkcí myši kmene C3H a C57Bl/7 po chronickému vystavování vysokofrekvenčnímu elektromagnetickému poli. Myš byla vystavována poli (880 MHz a výkonu 10 W) 3 hodiny denně v určitém období svého života (1.-30. den, 31.-60. den nebo 91.-120. den po narození). Období testování schopností probíhalo v závislosti na době expozice po narození (testy ve stejných intervalech po expozici<sup>8</sup>). Funkce byly testovány několika metodami: kognitivní testování v MWM a motorické na lavičkách, hrazdě, žebříku, válci a pád, tj:

- 1.-5. + 8. den po expozici – MWM : 4 starty denně (S, J, Z, V), mezi starty 90 s pauza, ostrůvek umístěn standardně v JZ kvadrantu – měřena latence po jednotlivých startech  $t_{L,start}$
- 13. a 14. den po expozici – lavičky, kdy byla měřena doba usazení jedince na lavičce
- 20. den po expozici – motorika: pád (špatný, dobrý dopad), hrazda, žebřík (hlavou dolů), válec (hlavou proti směru rotace), kritérium 60 s, vše opakováno 4x v každé sérii
- 24. den po expozici – provedeny testy na epilepsii

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 257 záznamů, kde kromě již uvedených výstupů jednotlivých testů, je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, kmen, jeho pohlaví, barva, datum narození a identifikace hnízda, přítomnost genetické poruchy a doba expozice.

V případě hrazdy, žebříku a válce je standardně měřena doba strávená na nářadí  $t_L$ , v případě pádu úspěšnost  $u$ . V případě aktivního seskoku z nářadí se doplňuje údaj +100 s.

Hypotézou experimentu je: *Vysokofrekvenční elektromagnetické pole nemá vliv na funkce normálního a částečně defektního mozku.* V tab. A.8 je naznačeno zaměření na vybrané faktory daného pokusu a uveden počet jedinců v dané skupině.

Vybraní jedinci byli v průběhu experimentu odebráni na histologii nebo elektrofyziologii.

<sup>8</sup>např. pro expozici 1.-30. den života: 31.-35. a 38. den MWM, 43.(±1) den lavičky, 50.(±1) den motorika, 54.(±1) den epilepsie

kmen	typ mutace	vf ovlivnění elmag. polem	období ovlivnění			mohutnost souboru
			1. – 30. den	31. – 60. den	91. – 120. den	
C57	Wild	ano	0	0	13 (5 x 8)	<b>13</b>
C57	Wild	kontrola	0	0	15 (8 x 7)	<b>15</b>
C57	Lurcher	ano	0	0	10 (6 x 4)	<b>10</b>
C57	Lurcher	kontrola	0	0	9 (4 x 5)	<b>9</b>
C3H	Wild	ano	18 (7 x 11)	15 (9 x 6)	14 (5 x 9)	<b>47</b>
C3H	Wild	kontrola	39 (22 x 17)	14 (6 x 8)	8 (4 x 4)	<b>61</b>
C3H	Lurcher	ano	18 (10 x 8)	16 (8 x 8)	13 (4 x 9)	<b>47</b>
C3H	Lurcher	kontrola	28 (15 x 13)	15 (7 x 8)	12 (7 x 5)	<b>55</b>

Tab. A.8: Faktory experimentu chronického působení vysokofrekvenčního pole

## A.9 Vliv akutního působení vysokofrekvenčního pole

Tento experiment byl zaměřen na testování nervových funkce myši kmene C3H a C57Bl/7 po akutním vystavení vysokofrekvenčnímu elektromagnetickému poli. Testování jedinci byli vystaveni vf poli o frekvenci 880 MHz a výkonu 10 W, . Metodou experimentu bylo MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V), ostrůvek umístěn standardně v JZ kvadrantu. Testování schopností jedinců kmene C3H probíhalo ve sledu: 1.-5. den a poté den 8. Měřena byla latence po jednotlivých startech  $t_{L,start}$ . Po provedení experimentu proběhly testy na epilepsii.

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 110 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, kmen, pohlaví, věk, přítomnost genetické poruchy, informace o hníždě, stupeň epileptické reakce a zmíněné latence.

Hypotézou experimentu je: *Vysokofrekvenční elektromagnetické pole nemá vliv na funkce normálního a částečně defektního mozku.* V tab. A.9 je naznačeno zaměření na vybrané faktory daného pokusu a uveden počet jedinců v dané skupině.

kmen	typ mutace	ovlivnění vf	mohutnost souboru
C57	Wild	ano	<b>13</b> (6 x 7)
C57	Wild	kontrola	<b>15</b> (7 x 8)
C57	Lurcher	ano	<b>15</b> (2 x 13)
C57	Lurcher	kontrola	<b>15</b> (2 x 13)
C3H	Wild	ano	<b>20</b> (9 x 11)
C3H	Wild	kontrola	<b>19</b> (8 x 11)
C3H	Lurcher	ano	<b>13</b> (3 x 10)
C3H	Lurcher	kontrola	<b>15</b> (4 x 11)

Tab. A.9: Faktory experimentu akutního působení vysokofrekvenčního pole

## A.10 Vliv diety na schopnost učení

Metodou experimentu bylo MWM se 4 starty v jednom dni (S, J, Z, V), ostrůvek byl standardně v JZ kvadrantu. Testování schopností jedinců kmene C3H typu Wild i Lurcher probíhalo 1.-5. den a poté den 8., jedinci se lišili variantou diety (resp. obohaceností stravy) a stimulací:

- varianta A = stimulace + dieta od narození
- varianta B = bez stimulace + dieta od 21. dne
- varianta C = bez stimulace + dieta od narození

Měřena byla latence po jednotlivých startech  $t_{L,start}$ .

Výsledkem experimentu je datový soubor o velikosti 62 záznamů, kde je pro každého testovaného jedince uvedeno číslo jedince, jeho barva, pohlaví, datum narození, přítomnost genetické poruchy, informace o hnízdě, typu diety a poté již zmíněné latence.

Hypotézou experimentu je: *Dieta a stimulace má vliv na kognitivních schopnosti.* V tabulce A.10 je naznačeno zaměření na vybrané faktory daného pokusu a uveden počet jedinců v dané skupině.

typ mutace	strava	varianta diety	mohutnost souboru
Wild	obohacená	A	<b>5</b> (3 x 2)
Wild	obohacená	B	<b>6</b> (2 x 4)
Wild	obohacená	C	<b>0</b>
Wild	kontrola	A	<b>8</b> (4 x 4)
Wild	kontrola	B	<b>4</b> (3 x 1)
Wild	kontrola	C	<b>6</b> (2 x 4)
Lurcher	obohacená	A	<b>6</b> (3 x 3)
Lurcher	obohacená	B	<b>3</b> (3 x 0)
Lurcher	obohacená	C	<b>0</b>
Lurcher	kontrola	A	<b>8</b> (6 x 2)
Lurcher	kontrola	B	<b>7</b> (3 x 4)
Lurcher	kontrola	C	<b>9</b> (5 x 4)

Tab. A.10: Faktory experimentu vlivu diety na schopnost učení



## B Laboratorní testování motorického učení

Pozn: Fotografie dodány LF UK Plzeň – Ústavem patologické fyziologie.



a) motorický test HRAZDA



b) motorický test ŽEBŘÍK



c) motorický test VÁLEC

Obr. B.1: Laboratorní testy prováděné na myších jedincích

## C Matematický aparát

V následující tabulce jsou uvedeny užívané statistické pojmy a metody pro testování hypotéz. Jedná se o běžně užívané pojmy, které lze nalézt např. v [10] či [26].

Je třeba připomenout, že v textu práce není formálně rozlišována směrodatná odchylka a výběrová směrodatná odchylka, označení  $\sigma$  odpovídá výběrové směrodatné odchylce. Současně s tím je používán pojem střední hodnota, ačkoliv se jedná o odhad střední hodnoty reprezentovaný aritmetickým průměrem. U mediánu se opět jedná o hodnotu výběrového mediánu.

POJEM	Popis veličiny či testu
$\mu$	střední hodnota – popis centrální (střední) tendence dat $\mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$
$\sigma$	směrodatná odchylka – míra statistické disperze $\sigma = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}$
SEM	směrodatná chyba průměru $SEM = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$
$x_{0.5}$	medián (50%-ní kvantil)– popis centrální (střední) tendence dat vhodnější pro nevyvážená data Pro uspořádaný náhodný výběr $X_1 \leq \dots \leq X_n$ : $x_{0.5} = \begin{cases} \text{pro } n \text{ liché: } X_{\frac{n+1}{2}} \\ \text{pro } n \text{ sudé: } \frac{X_{\frac{n}{2}} + X_{\frac{n}{2}+1}}{2} \end{cases}$
$q$ (iqr)	mezikvartilové rozpětí (rozdíl horního 75%-ního a dolního 25%-ního kvantilu) $iqr = x_{0.75} - x_{0.25}, \text{ kde } P(X \leq x_p) = p$
$r$	korelace – vyjadřuje vzájemný vztah mezi znaky či veličinami

ANOVA	<p>analýza rozptylu:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• jednoduché třídění – zkoumá vliv jednoho kvalitativního faktoru (testování hypotézy rovnosti středních hodnot různých skupin náhodného výběru, meziskupinové a vnitroskupinové variability)</li> <li>• dvojné třídění – zkoumá vliv dvou faktorů (např. hladina cholesterolu u mužů a žen vegetariánů a mužů a žen jedících maso)</li> </ul> <p>Výsledky výpočtů a porovnání dvojic modelů se zaznamenávají do tabulky s ustálenou podobou (z hlediska porovnávání skupin (modelů) F-hodnota = hodnota testového kritéria, které porovnává dvojici modelů; p-hodnota (p-value) určuje, na jaké hladině významnosti je možné zamítnout hypotézu, že oba použité modely jsou rovnocenné; porovnává se s předem stanoveným číslem (obvykle s hladinou významnosti 0.05) a je-li menší, rovnocennost modelů se zamítne).</p>
MANOVA	vícerozměrná analýza rozptylu
Kruskall–Wallisův test	neparametrická varianta analýzy rozptylu pro případ jednoduchého třídění
párový t-test	parametrický test testující hypotézu rovnosti středních hodnot u párových dat (např. před a po experimentu)
Wilcoxonův jednovýběrový test	neparametrický test testující hypotézu rovnosti mediánu danému číslu, alternativa k parametrickému párovému t-testu; vhodnější pro rozdělení blízké normálnímu
$\chi^2$ test	používá se pro zjištění, zda vzorek dat odpovídá předpokládanému rozdělení (zda parametry rozdělení jsou stejné v různých skupinách náhodného výběru)
Wilcoxon–Mann–Whitneyův test (U-test)	<p>neparametrický test testující hypotézu, že dva nezávislé náhodné výběry pocházejí ze stejného rozdělení</p> <p><i>Demonstrace přístupu:</i>  Testujeme hypotézu <math>H_0</math>: <i>Muži a ženy váží stejně.</i>  váha žen <math>V_1 = \{62, 55, 82, 64, 75, 71\}</math>;  váha mužů <math>V_2 = \{78, 85, 101, 89, 79, 92, 95\}</math>  po seřazení souboru všech hodnot obou výběrů jsou pořadová čísla hodnot:</p>

	$V_1 = \{2, 1, 8, 3, 5, 4\}$ a $V_2 = \{6, 9, 13, 10, 7, 11, 12\}$ , tzn. součty pořadí ve skupinách jsou $R_1 = 23$ a $R_2 = 68$ , pak $U = N_1 N_2 + \frac{N_2(N_2+1)}{2} - R_2 = 6 \cdot 7 + \frac{7 \cdot 8}{2} - 68 = 2$ Kritická hodnota $U$ statistiky pro 2 soubory o velikosti 6 a 7 je např. na hladině významnosti $\alpha = 0.05$ je rovna $U_{0.05} = 6$ a protože $U \leq U_{0.05}$ zamítáme $H_0$ .
post hoc Scheffe test	test udávající dodatečnou informaci k výsledkům ANOVA testu pro určení konkrétních skupin se statisticky významnými rozdíly

Tab. C.1: Statistické metody a testy hypotéz

## D Obsah příloženého CD

Na příloženém CD jsou uloženy všechny grafy a tabulky k jednotlivým experimentům. Ke každému experimentu jsou uvedeny dále popsané soubory, pokud to metodika experimentu umožňuje. Údaje zvýrazněné kurzívou v názvech jsou proměnlivé v závislosti na daném experimentu a jsou uvedeny dále v textu.

### Seznam grafů na příloženém CD

1. adresář *nevyuzivane\_metody*:

*korelaceVystupy\_měření* – korelace výstupů provedených testů

*korelaceVystupyCas\_měření* – korelace jednotlivých výstupů provedených testů v čase

*korelaceVystupy\_SJZVLat* – korelace výstupů MWM v případě měření dle jednotlivých startovacích pozic  $r(X(t_k), Y(t_k))$ , kde  $X = t_L$  [s] značí vždy průměrnou hodnotu latence dle jednotlivých startovacích pozic a  $Y = t_{L,start}$  [s] (**sever**, **jih**, **východ** a **západ**)

*starty\_verze\_tk=k* – histogramy doby nalezení ostrůvku  $t_{L,start}$  dle jednotlivých startovacích pozic pro časový okamžik  $t_k = k$  v dané verzi dle parametrů experimentu

*starty\_verze\_pozice* – histogramy doby nalezení ostrůvku  $t_L$  provedeného experimentu dle jednotlivých startovacích pozic v dané verzi dle parametrů experimentu; *pozice* jsou definovány dle startovacích světových stran **sever**, **jih**, **vychod** a **zapad**

*boxplot\_verze* – boxploty pro testovanou skupinu v dané verzi dle parametrů experimentu

2. adresář *metody\_vyhodnoceni*:

*metoda\_verze* – vyhodnocení procesu učení dle dané metody v dané verzi dle parametrů experimentu; *metody* jsou vždy definovány stejně:

*usp* – pro vyhodnocení dle atributu úspěšnost (pravděpodobnosti úspěchu)

*muSem* – vyhodnocení dle vývoje středních hodnot náhodné proměnné (doby)

*Dp\_norm* – vyhodnocení dle statistické vzdálenosti v pravděpodobnosti (doby) s využitím aproximace normálním rozdělením

*Wd\_norm* – pro vyhodnocení dle statistické vzdálenosti v jednotkách náhodné proměnné (doby) s využitím aproximace normálním rozdělením

Pozn: V případě hodnocení náhodné proměnné dráha a rychlost jsou uvedeny metody vyhodnocení odpovídající vyhodnocení procesu učení pro náhodnou proměnnou dobu  $\tau$ , ačkoliv v tomto případě se přímo o proces učení nejedná.

*vydatnost\_metoda\_verze* – vydatnost učení dle dané metody v dané verzi dle parametrů experimentu; *metody* jsou definovány stejně jako v předchozím případě

$F(x)$ \_norm-*typ\_verze* – distribuční funkce náhodné proměnné  $x$  (doby/rychlosti/dráhy) pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením

### 3. adresář *ruzne\_aproximace*:

$f(x)$ -*typ\_verze* ( $tk=k$ ) – hustoty pravděpodobnosti náhodné proměnné  $x$  (doby/rychlosti/dráhy) pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximací normálním, exponenciálním, Weibullovým a Coxovo fázovým rozdělením pro časový okamžik  $t_k = k$  (pro motorické testy ve formě  $tk=1z1$  pro  $t_k = 1/1$ )

$Dp\_vsechnaAi\_verze$  – vyhodnocení dle statistické vzdálenosti v pravděpodobnosti  $D_p$  doby/dráhy/rychlosti pro měření v dané verzi dle parametrů experimentu s využitím aproximací normálním, exponenciálním, Weibullovým a Coxovo fázovým rozdělením

### 4. adresář *chyby\_a\_odchylky*:

*ChybaMetody\_metoda\_typ\_verze* – chyba metody v jednotlivých časových okamžicích dle počtu jedinců v náhodném výběru při využití dané metody vyhodnocení pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením; *metody* jsou definovány stále stejně

*MaxChybaMetody\_metoda\_typ\_verze* – maximální chyba metody dle počtu jedinců v náhodném výběru při využití dané metody vyhodnocení pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením; *metody* jsou definovány stále stejně

*ChybaMereni\_metoda\_typ\_verze* – chyba měření v jednotlivých časových okamžicích dle počtu jedinců v náhodném výběru při využití dané metody vyhodnocení pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením; *metody* jsou definovány stále stejně

*MaxChybaMereni\_metoda\_typ\_verze* – maximální chyba měření dle počtu jedinců v náhodném výběru při využití dané metody vyhodnocení pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením; *metody* jsou definovány stále stejně

*Oapr\_metoda\_verze* – odchylka nevyužití apriori informace vyhodnocení dle atributu úspěšnost (pravděpodobnosti úspěchu) měření v dané verzi dle parametrů experimentu s využitím aproximace normálním rozdělením; *metody* jsou definovány stále stejně

$Dp(F\_Ai\_F\_X)$ -*typ\_verze* – odchylka aproximací od empirických dat pro měření v dané verzi a typu skupiny dle parametrů experimentu s využitím normálního, exponenciálního, Weibullova a Coxova fázového rozdělení

## Seznam .xlsx souborů na příloženém CD

**faktORIZACE** – hodnoty p-value pro analýzu citlivosti na jednotlivé faktory experimentu a určení pořadí vlivu faktorů experimentu

**J\_kriterium** – hodnoty klasifikačního kritéria pro daný experiment

**informacni\_prinos** – hodnoty informačního přínosu  $I(t_k|t_{k-1})$  pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu

**mira\_kvalita\_uceni** – hodnoty kvality  $\delta r_{t_k|t_{k-1}}$  a míry učení  $V(t_k)$  pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu (pro hodnocení dle atributu  $u$ )

**statistiky** – hodnoty statistik ( $\mu$ ,  $\sigma$ , SEM, medián, horní a dolní kvantil, mezikvartilové rozpětí, modus, maximální a minimální hodnota) pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu

**odchylka\_apriori** – hodnoty odchylek nevyužití/využití apriori informace při hodnocení procesu učení (všemi uváděnými metodami) pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu

**kriterium\_aproximace** – hodnoty aproximačního kritéria pro jednotlivé provedené testy  $D_p(A_i)_{test}$  dle parametrů experimentu

**delta\_aproximace** – hodnoty odchylek  $\Delta D_p(A_i|t_k)$  od referenční aproximace pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu

**chyby\_metody\_a\_mereni** – maximální chyby daných metod vyhodnocení a měření pro porovnávané skupiny v daných verzích a typech dle parametrů experimentu

## Seznam proměnlivých parametrů v názvech souborů

Hodnocené skupiny, tj. *měření*, *verze* a *typy*, vychází z provedených korelačních a klasifikačních testů a testované hypotézy.

experiment *Vliv podávání SCH 23390 na prostorové učení*

adresář: Podavani\_SCH\_23390

měření = MWM - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (definována průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = SJZV - kognitivní test nalezení ostrůvku v MWM (měřeny jednotlivé startovní pozice – latence  $t_{L,start}$ )

verze = L – skupina hodnocená v závislosti na aplikované látce

verze = Lsch – podskupina s aplikací látky SCH hodnocená v závislosti na typu kmene  
verze = Lfr – podskupina s aplikací látky FR hodnocená v závislosti na typu kmene  
verze = Lskf – podskupina s aplikací látky SKF hodnocená v závislosti na typu kmene

typ = SCH – část skupiny L s aplikací látky SCH (blokátorem dopaminových receptorů)  
typ = FR – část skupiny L s aplikací látky FR (neutrálním fyziologickým roztokem)  
typ = SKF – část skupiny L s aplikací látky SK (látkou dráždicí dopaminové receptory)  
typ = C57 – část podskupiny Lsch, Lfr či Lskf kmene C57  
typ = C3H – část podskupiny Lsch, Lfr či Lskf kmene C3H

experiment *Vliv podávání SCH 23390 aktivního a SCH 23388 neaktivního*

adresář: Podavani\_(ne)aktivni\_SCH

měření = MWM - kognitivní test nalezení ostrůvku v MWM (měřena průměrná hodnota  $t_L$ )

verze = Laktivita – skupina hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot latence

verze = LLc – skupina mutantních jedinců typu Lurcher hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot latence

verze = LW – skupina jedinců bez mutace typu Wild hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot latence

verze = Raktivita – skupina hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot rychlosti plavání

verze = RLc – skupina mutantních jedinců typu Lurcher hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot rychlosti plavání

verze = RW – skupina jedinců bez mutace typu Wild hodnocená v závislosti na variantě podání látek dle hodnot rychlosti plavání

typ = AktNeakt – část skupiny Laktivita, Raktivita či část podskupiny LLc, RLc, LW či RW s variantou podávání nejdříve aktivního blokátoru SCH 23390, poté neaktivního SCH 2338

typ = NeaktAkt – část skupiny Laktivita, Raktivita či část podskupiny LLc, RLc, LW či RW s variantou podávání nejdříve neaktivního SCH 23388, poté aktivního blokátoru SCH 23390

experiment *Prostorové učení kmene C3H se značkou na ostrůvku*

adresář: Znacka\_na\_ostruvku

měření = MWM - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (měřena průměrná hodnota  $t_L$ )



verze = **Lslepota** – skupina hodnocená v závislosti na slepotě dle hodnot latence

verze = **Lslep** – podskupina jedinců slepých hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot latence

verze = **Lvidi** – podskupina jedinců vidících hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot latence

verze = **LNA** – podskupina jedinců s neuvedenou hodnotou slepoty hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot latence

verze = **Rslepota** – skupina hodnocená v závislosti na slepotě dle hodnot rychlosti plavání

verze = **Rslep** – podskupina jedinců slepých hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot rychlosti plavání

verze = **Rvidi** – podskupina jedinců vidících hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot rychlosti plavání

verze = **RNA** – podskupina jedinců s neuvedenou hodnotou slepoty hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot rychlosti plavání

typ = **Lc** – mutantní část skupiny **Lslep**, **Rslep**, **Lvidi**, **Rvidi** či **LNA**, **RNA** (jedinci typu Lurcher)

typ = **W** – část skupiny **Lslep**, **Rslep**, **Lvidi**, **Rvidi** či **LNA**, **RNA** bez mutace (jedinci typu Wild)

typ = **slep** – slepá část skupiny **Lslepota** či **Rslepota**

typ = **vidi** – vidící část skupiny **Lslepota** či **Rslepota**

typ = **NA** – část skupiny **Lslepota** či **Rslepota** s neuvedenou hodnotou slepoty

experiment ***Zraková orientace kmenů C3H a C57Bl/7***

adresář: `Zrakova_orientace`

měření = **MWM** - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (definována průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = **SJZV** - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (měřeny jednotlivé startovní pozice – latence  $t_{L,start}$ )

verze = **Lkmen** – skupina hodnocená v závislosti na typu kmene dle hodnot latence

verze = **Lslepota** – skupina hodnocená v závislosti na slepotě dle hodnot latence

verze = **LC3Hslepota** – podskupina kmene C3H hodnocená v závislosti na slepotě dle hodnot latence

typ = **C57** – část skupiny **Lkmen** kmene C57

typ = **C3H** – část skupiny **Lkmen** kmene C57

typ = **slep** – slepá část skupiny **Lslepota** či podskupiny **LC3Hslepota**

typ = **vidi** – vidící část skupiny **Lslepota** či podskupiny **LC3Hslepota**

Pozn: Vzhledem k tomu, že slepotou je ovlivněn pouze kmen **C3H**, je tato část dat speciálně samostatně hodnocena. Proto je také pro verzi **LC3Hslepota** provedena odpovídající analýza pro jednotlivé startovací pozice, tj. např. pro verzi **LC3HslepotaS** pro startovací pozici **sever**. S tímto souvisí provedení analýzy dle kmenů pro jednotlivé startovací pozice, pro **sever** obdobně verze **LkmenS**. Stejně tak je zde uvedena verze **Lkmen** a **Lmutace**, dle kterých by měla být prováděna klasifikace, která vzhledem k nedostatku dat není jinak možná.

experiment *Srovnání schopností kmenů C3H a C57Bl/7*

adresář: `Porovnani_schopnosti_kmenu`

měření = **MWM** - kognitivní testování nalezení ostrůvku v **MWM** (měřena průměrná hodnota  $t_L$ )

měření = **motorika** - motorické testování setrvání na nářadí

měření = **OF** - testování chování v aréně open-field

verze = **L** – skupina měřená v **MWM** hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot latence  
verze = **S** – skupina měřená v **MWM** hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot doby strávené ve středu

verze = **Sp** – skupina měřená v **MWM** hodnocená v závislosti na mutaci dle hodnot doby 1. vstupu do středu

verze = **H** – skupina měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na mutaci

verze = **Z** – skupina měřená na žebříku hodnocená v závislosti na mutaci

verze = **V** – skupina měřená na válci hodnocená v závislosti na mutaci

verze = **OF** – skupina při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle ušlé dráhy

verze = **OFp** – skupina při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle doby strávené na periférii

typ = **Lc** – mutantní část uvedených skupin (jedinci typu **Lurcher**)

typ = **W** – část uvedených skupin bez mutace (jedinci typu **Wild**)

Pozn: Zde je řešena alternativa nulové hypotézy *Jedinci kmene C3H typu Lurcher mají odlišné motorické a kognitivní schopnosti než jedinci typu Wild*, viz příloha A.5.

experiment *Vliv transplantace mozečku na motorické schopnosti*

adresář: Transplantace\_motorika

měření = motorika - motorické testování setrvání na nářadí

měření = OF - testování chování v aréně open-field

verze = HLc – mutantní část skupiny (jedinci typu Lurcher) měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = ZLc – mutantní část skupiny (jedinci typu Lurcher) měřená na žebříku hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = VLc – mutantní část skupiny (jedinci typu Lurcher) měřená na válci hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = OFLc – mutantní část skupiny (jedinci typu Lurcher) při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle ušlé dráhy

verze = OFpLc – mutantní část skupiny (jedinci typu Lurcher) při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle doby strávené na periférii

(jedinci typu Lurcher) měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = ZW – část testované skupiny bez mutace (jedinci typu Wild) měřená na žebříku hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = VW – část testované skupiny bez mutace (jedinci typu Wild) měřená na válci hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = OFW – část testované skupiny bez mutace (jedinci typu Wild) při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle ušlé dráhy

verze = OFpW – část testované skupiny bez mutace (jedinci typu Wild) při testu open-field hodnocená v závislosti na mutaci dle doby strávené na periférii

typ = transplantace – část skupin HLc, ZLc či VLc s provedenou transplantací

typ = kontrola – kontrolní část skupin HLc, ZLc či VLc

experiment *Vliv transplantace mozečku na nervové funkce trénovaných/netrénovaných jedinců*

adresář: Transplantace\_trenink

měření = motorika - motorické testování setrvání na nářadí

měření = MWM - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (měřena průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = OF - testování chování v aréně open-field

verze = Hr – skupina trénovaná na válci měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Hp – skupina trénovaná plaváním měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Hb – skupina netréňovaná měřená na hrazdě hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Zr – skupina trénovaná na válci měřená na žebříku hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Zp – skupina trénovaná plaváním měřená na žebříku hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Zb – skupina netréňovaná měřená na žebříku hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Vr – skupina trénovaná na válci měřená na válci hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Vp – skupina trénovaná plaváním měřená na válci hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Vb – skupina netréňovaná měřená na válci hodnocená v závislosti na provedené transplantaci

verze = Lr – skupina trénovaná na válci měřená v MWM hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle hodnot latence

verze = Lp – skupina trénovaná plaváním měřená v MWM hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle hodnot latence

verze = Lb – skupina netréňovaná měřená v MWM hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle hodnot latence

verze = Sp – skupina trénovaná plaváním měřená v MWM hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle doby strávené ve středu bludiště

verze = Sb – skupina netréňovaná měřená v MWM hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle doby strávené ve středu bludiště

verze = OFr – skupina trénovaná na válci měřená při testu v open-field hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle ušlé dráhy

verze = OFb – skupina netréňovaná měřená při testu v open-field hodnocená v závislosti na provedené transplantaci dle ušlé dráhy

typ = transplantace – část uvedených skupin s provedenou transplantací

typ = kontrola – kontrolní část uvedených skupin

experiment *Vliv chronického působení vysokofrekvenčního pole*

adresář: Chronicke\_pusobeni\_vf

měření = **MWM** - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (definována/měřená průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = **motorika** - motorické testování setrvání na nářadí

měření = **OF** - testování chování v aréně open-field

měření = **lavice** - testování chování na lavičce (měřena doba usazení)

verze = **LC57Lc** – skupina kmene C57 s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LC57W** – skupina kmene C57 bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LavC57Lc** – skupina kmene C57 s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LavC57W** – skupina kmene C57 bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LavC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **LavC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **HC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **HC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **ZC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **ZC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **VC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **VC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **PC3HLc** – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **PC3HW** – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = **0FC57Lc** – skupina kmene C57 s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závis-

losti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = 0FC57W – skupina kmene C57 bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = 0FpC57Lc – skupina kmene C57 s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = 0FpC57W – skupina kmene C57 bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

typ = vf – část uvedených skupin s vysokofrekvenčním ovlivněním

typ = kon – kontrolní část uvedených skupin

Pozn: Nesprávnost měření je zde dána záznamem latence  $t_{L,start}$  v MWM u kmene C3H a  $t_L$  u kmene C57 systémem Ethovision. Test open-field byl proveden jen pro kmen C57, motorika jen pro C3H (resp. pro kmen C57 jsou uvedeny jen hodnoty procentuální úspěšnosti). Pro C3H by v případě samostatného experimentu bylo možné další dělení dle doby expozice. Z důvodu zachování jednotnosti vyhodnocení experimentu jako celku toto není v práci uvedeno.

experiment *Vliv akutního působení vysokofrekvenčního pole*

adresář: Akutni\_pusobeni\_vf

měření = MWM - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (definována průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = SJZV - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (měřeny jednotlivé startovní pozice – latence  $t_{L,start}$ )

verze = LC57Lc – skupina kmene C57 s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = LC57W – skupina kmene C57 bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = LC3HLc – skupina kmene C3H s mutací (jedinci typu Lurcher) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

verze = LC3HW – skupina kmene C3H bez mutace (jedinci typu Wild) hodnocená v závislosti na vysokofrekvenčním ovlivnění dle hodnot latence

typ = vf – část uvedených skupin s vysokofrekvenčním ovlivněním

typ = kon – kontrolní část uvedených skupin

experiment *Vliv diety na schopnost učení*

adresář: `Vliv_diety_uceni`

měření = MWM - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (definována průměrná hodnota latence  $t_L$ )

měření = SJZV - kognitivní testování nalezení ostrůvku v MWM (měřeny jednotlivé startovní pozice – latence  $t_{L,start}$ )

verze = `Ldieta` – skupina hodnocená v závislosti na variantě diety dle hodnot latence

typ = `varA` – část skupiny `Ldieta`, `LLc` či `LW` s variantou diety A

typ = `varB` – část skupiny `Ldieta`, `LLc` či `LW` s variantou diety B

typ = `varC` – část skupiny `Ldieta`, `LLc` či `LW` s variantou diety C