

Análise da estrutura de clusterização das redes de conectividade funcional do cérebro para investigar as bases das desordens do espectro autista

Maciel Calebe Vidal

DISSERTAÇÃO APRESENTADA
AO
INSTITUTO DE MATEMÁTICA E ESTATÍSTICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
COMO REQUISITO PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE
MESTRE EM CIÊNCIAS

Programa: Pós-graduação em Ciência da Computação

Orientador: Prof. Dr. André Fujita

Durante o desenvolvimento deste trabalho o autor recebeu auxílios financeiros da CAPES e CNPq

São Paulo, novembro de 2014

Análise da estrutura de clusterização das redes de conectividade funcional do cérebro para investigar as bases das desordens do espectro autista

Esta é a versão original da dissertação elaborada pelo candidato Maciel Calebe Vidal, tal como submetida à Comissão Julgadora.

Agradecimentos

À minha família, em especial ao meu pai Anildo Vidal e à minha mãe Marli Sanini por sempre me apoiarem.

À Luciana, amor da minha vida, por ser incansável na arte de ser companheira, querida, compreensiva! Sou feliz por tudo que compartilhamos. Agradeço também por ler e reler meus textos e sugerir alterações.

Agradeço ao professor André Fujita por ser um visionário e sempre acreditar nos orientandos. Pela paciência e por não ter medido esforços para me atender, por email ou pessoalmente e prover orientação para que toda situação adversa fosse solucionada. Você é um exemplo!

Aos administradores da rede Vision, agora eScience, por muitas vezes deixarem suas atividades de pesquisa em segundo plano para desligar, ligar máquinas, adicionar usuários e tantas outras atividades que possibilitaram executar meus testes.

Ao professor João Ricardo Sato pelas dúvidas respondidas por email e dicas de artigos.

Aos colegas de classe, pelas discussões e estudos em grupo.

Aos ex-colegas de pensão que me receberam ao chegar em São Paulo, foram companheiros de bandeirão no domingo e de conversas divertidas na cozinha.

Aos funcionários do IME e da USP por sempre mostrarem disposição em ajudar. Em especial à Lucileide pelo auxílio nos processos burocráticos.

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro durante o desenvolvimento dessa dissertação.

Ao Programa de Verão do IME, pela oportunidade de ter sido monitor e de ministrar um curso. Participar dessas atividades foi muito gratificante.

A Deus, pela vida, saúde e a dádiva de cada dia.

Resumo

VIDAL, M. C. **Análise da estrutura de clusterização das redes de conectividade funcional do cérebro para investigar as bases das desordens do espectro autista.** 2014. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

As desordens do espectro autista (ASD, do inglês *autism spectrum disorders*) são desordens do desenvolvimento neurológico caracterizadas por deficiências na interação social, comunicação e comportamentos estereotipados e repetitivos. A ressonância magnética funcional (fMRI) é uma ferramenta importante na investigação da neurociência e proporcionou caracterizar o autismo como uma desordem também de origem neurológica com anormalidades no funcionamento coordenado de regiões cerebrais. Com base na hipótese de que a presença ou não de alguma desordem neurológica pode ser verificada pela diferença na estrutura de clusterização da rede cerebral, utilizamos o teste estatístico ANOCVA - *ANalysis Of Cluster structure VAriability* - em dados de ressonância magnética funcional. O ANOCVA baseia-se essencialmente na estatística da silhueta como medida de “variabilidade” da estrutura de clusterização de cada população e permite a identificação dos vértices agrupados de forma diferente. Para a clusterização dos vértices das redes, utilizamos clusterização espectral. Nos experimentos do ANOCVA em dados biológicos, foram utilizados os dados de fMRI de 896 indivíduos (367 diagnosticados com alguma ASD e 529 controles) do banco de dados público ABIDE. Os resultados dos experimentos realizados mostraram haver diferenças na estrutura de clusterização da rede de conectividade funcional do cérebro em regiões com função motora (cerebelo, córtex motor primário e giro frontal médio), sensorial (giro pós-central) e visual (giro temporal inferior e córtex lateral occipital). Todas as regiões identificadas possuem funções relacionadas às desordens do espectro autista, o que colabora para uma caracterização mais detalhada das bases neurológicas nas ASDs.

Palavras-chave: clusterização; teste estatístico; grafos; fMRI; ABIDE; Autismo.

Abstract

VIDAL, M. C. **Analysis of the clustering structure of brain functional connectivity networks to investigate the bases of autism spectrum disorders**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Autism spectrum disorders (ASD) are neurodevelopmental disorders characterized by impairments in social interaction, communication and repetitive and stereotyped behaviors. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) is an important tool in neuroscience research and made possible to characterize autism as a disorder of neurological origin also, with abnormalities in brain regions coordinated operation. Based on the hypothesis that the presence or absence of a neurological disorder can be checked by the difference in the clustering structure of brain network, we used statistical test ANOCVA - *ANalysis Of Cluster structure VARIability* in data from functional magnetic resonance imaging. ANOCVA is essentially based on statistical silhouette as a measure of “variability” of each population clustering structure and allows the identification of differently grouped vertices. For the network vertices clustering, we used spectral clustering. In ANOCVA experiments on biological data, we used fMRI data of 896 individuals (367 diagnosed with any ASD and 529 controls) from the ABIDE public database. The experimental results showed some differences in the clustering structure of functional connectivity network of brain regions with motor (cerebellum, primary motor cortex and middle frontal gyrus), sensory (post-central gyrus) and visual function (inferior temporal gyrus and occipital cortex side). All identified regions have related functions to autism spectrum disorders, which contributes to a more detailed characterization of the neurological bases in ASDs.

Keywords: clustering; statistical test; graphs; fMRI; ABIDE; Autism.

Sumário

Lista de Figuras	vii
1 Introdução	1
2 Desordens do espectro autista	4
2.1 Breve histórico	5
2.2 Patogênese	6
2.3 Sobre o diagnóstico	7
2.4 Conectividade em ASD	8
3 Ressonância magnética funcional	11
3.1 Pré-processamento de dados	16
3.1.1 Correção da temporização das fatias	16
3.1.2 Correção de movimento	17
3.1.3 <i>Pipeline</i> de pré-processamento	18
3.2 Visualização dos resultados	20
3.3 Sistema de coordenadas	20
3.4 Atlas e modelos	22
3.4.1 Atlas Talairach	23
3.4.2 Modelos MNI	23
3.5 Região de interesse	24
3.5.1 Definição das ROIs	25
4 Clusterização	28
4.1 Discussão sobre o termo <i>cluster</i>	31
4.2 Métodos para clusterização	32
4.2.1 <i>k</i> -médias	32
4.2.2 <i>k</i> -medoides	34
4.2.3 Clusterização espectral	35

4.3	Estimação do número de <i>clusters</i>	36
5	Análise da variabilidade da estrutura do cluster (ANOCVA)	40
5.1	Enunciado do problema	40
5.1.1	Extensão da estatística da silhueta	41
6	Aplicação em dados reais	44
6.1	Dados	44
6.2	Construção das redes de conectividade	45
6.3	Estimação do número de <i>clusters</i>	45
6.4	Análise ANOCVA	45
6.4.1	Resultados e discussão	49
7	Conclusão	53
	Referências Bibliográficas	55

Lista de Figuras

3.1	Número de publicações científicas com o termo fMRI no título ou resumo segundo o PubMed.	12
3.2	Esquema: da mudança do comportamento ao sinal fMRI.	13
3.3	Exemplo de equipamento para ressonância magnética, o Siemens MAGNETOM 7T.	14
3.4	Exemplo da série temporal fMRI: resposta de um determinado <i>voxel</i> em função do tempo.	15
3.5	Etapas de pré-processamento dos dados fMRI.	19
3.6	Exemplo de sobreposição dos resultados de uma análise por ROIs em uma imagem anatômica no programa MRICron.	21
3.7	Espaço de coordenadas padrão em neuroimagem.	22
3.8	Visualização 3D e cortes com orientação axial dos atlas CC400 e AAL.	26
4.1	Ilustração da subjetividade da análise de agrupamentos.	39
6.1	Definição do número de <i>clusters</i> pela estatística <i>slope</i>	46
6.2	Representação 3D dos <i>clusters</i> encontrados por clusterização espectral na base de dados ABIDE	46
6.3	Passos da análise ANOCVA.	47
6.4	Comparação entre os dados com e sem <i>scrubbing</i> para desconsiderar resultados muito diferentes.	48
6.5	Cortes das ROIs significativas no teste Controle versus Autismo.	50
6.6	Visualização 3D das ROIs significativas no teste Controle versus Autismo.	51

Capítulo 1

Introdução

Trabalhos recentes demonstram que, tanto a rede funcional quanto a estrutural do cérebro são exemplos de sistemas biológicos que possuem características de redes complexas, como vértices altamente conectados, modularidade, e propriedades de redes *small-world* [WS98].

Apesar destas redes possuírem características topológicas conhecidas, estas não são suficientes para diferenciar grafos sem ambiguidade. De modo geral, o problema da discriminação de grafos não é uma tarefa fácil e existem poucos trabalhos na área experimental. Especialmente em neurociência, quando indivíduos de dois grupos distintos são comparados, desenvolvimento típico versus doente por exemplo, é importante definir não só se foram gerados a partir de um mesmo modelo, mas também quais os atributos (arestas) que se diferenciam entre os grupos e que provavelmente funcionarão como marcadores biológicos da doença. Para identificar as arestas que mudam entre duas ou mais populações, nos baseamos na hipótese de que a presença ou não de alguma desordem neurológica pode ser verificada pela diferença na estrutura de clusterização da rede funcional do cérebro [S.00].

Utilizar técnicas de clusterização para análise da rede funcional de interações entre as regiões do cérebro é interessante devido a ideia de que processos cognitivos resultam da colaboração entre essas áreas e não do funcionamento de áreas cerebrais individuais.

A abordagem tradicional para avaliar estruturas de clusterização é comparar algumas estatísticas descritivas dessas estruturas, como o número de *clusters*, elementos em comum entre *clusters*, etc. Porém, para podermos testar estatisticamente a igualdade entre as estruturas de clusterização de duas ou mais populações, seguido pela identificação dos atributos clusterizados de maneira diferente,

neste trabalho utilizamos o teste estatístico ANOCVA - *ANalysis Of Cluster structure VARIability* [FTPS14].

O ANOCVA é uma extensão de duas ideias bem estabelecidas. Primeiro, a estatística da silhueta [Rou87] é utilizada como medida de “variabilidade” da estrutura de clusterização de cada população. Em seguida, é efetuada a comparação da silhueta entre populações. A ideia intuitiva do método baseia-se na suposição de que populações com a mesma estrutura de clusterização também possuem a mesma “variabilidade”. Isto permite obter um teste estatístico para análise de estruturas de clusterização, que permite comparar a estrutura de clusterização para múltiplos grupos simultaneamente; é rápido e de simples implementação; e que, como grande vantagem, identifica atributos que contribuem significativamente na diferenciação das estruturas clusterizadas. Resultados empíricos mostram que, sob a hipótese nula, o teste efetivamente controla a taxa de falsos positivos.

Os testes estatísticos utilizados neste trabalho podem ser aplicados a diversos algoritmos de clusterização [FTPS14], porém, como desejamos avaliar estatisticamente problemas modelados como redes, utilizaremos junto ao ANOCVA, algoritmos de clusterização espectral [Lux07], que compreendem uma forma simples de se clusterizar grafos, são fáceis de implementar e de rápida execução [VM03].

Em neurociência, a modelagem do cérebro como uma rede de conectividade fornece uma abstração que pode reduzir a complexidade de análise da rede neural. O cérebro humano possui grande variância quanto a forma e tamanho e, abstrair tais características pode ser útil na identificação de similaridades e diferenças na organização neural [BB06, BS09].

O ANOCVA foi utilizado para analisar o conjunto de dados ABIDE (Autism Brain Imaging Data Exchange), um banco de dados público que contém dados de ressonância magnética funcional (fMRI) e ressonância magnética estrutural de 1.112 indivíduos (539 diagnosticados com alguma desordem do espectro autista e 573 com desenvolvimento típico).

As desordens do espectro autista (ASD, do inglês *autism spectrum disorders*) são distúrbios do desenvolvimento neurológico que ocorrem em três formas principais: o autismo, a síndrome de Asperger e o Transtorno Invasivo do Desenvolvimento sem outra especificação - do inglês *Pervasive Developmental Disorder - Not Otherwise Specified* (PDD-NOS) [ESD⁺12].

Devido ao diagnóstico de ASD ser elaborado principalmente com base em parâmetros comportamentais [CJH11], há maior evidência da importância de estudos que busquem entender melhor tais distúrbios e aprimorar técnicas para

permitir, no futuro, o diagnóstico automático das desordens.

Especificamente para as desordens do espectro autista, medidas teóricas de grafos de redes cerebrais são particularmente bem adequadas, visto que tais desordens são, tal como a doença de Alzheimer, consideradas síndromes de desconexão [RBBB07, VCG12, MW07, GL07a, BABM⁺04]. Para síndromes de desconexão, o comprometimento funcional está teoricamente relacionado com a ruptura ou a integração anormal de regiões cerebrais espacialmente distribuídas [BS09, GL07b]. Em ASD, especificamente, a teoria do desenvolvimento de desconexão propõe uma diminuição da integração de longa distância acompanhada por um aumento da conectividade local [CPS⁺07].

Diferenças cerebrais em ASD são sutis e amplamente distribuídas em vez de localizadas em uma região anatômica bem definida. Isto pode explicar o motivo de ainda não ter sido descoberto um biomarcador robusto para a doença.

Assim, este trabalho propõe efetuar uma análise da estrutura de clusterização de indivíduos ASD pelo teste estatístico ANOCVA. Iremos verificar se existem diferenças na organização das regiões cerebrais de amostras ASD quando comparado a amostras de controle. O objetivo é contribuir para o conhecimento sobre as bases do espectro autista e que os resultados possam, no futuro, colaborar para um diagnóstico de ASD por meio de imagens médicas.

Capítulo 2

Desordens do espectro autista

Desordens do espectro autista (ASD, do inglês *autism spectrum disorders*) são transtornos do desenvolvimento neurológico (com anormalidades no funcionamento coordenado de regiões cerebrais) que afetam comportamentos humanos essenciais, como a capacidade de interação social, de comunicação e de imaginação, sendo marcadas por padrões de comportamento repetitivos e estereotipados, além de interesses restritos [Org93, LM01, LBBT14, JKM⁺12].

As desordens do espectro autista ocorrem em três formas principais: o autismo, a síndrome de Asperger e o transtorno invasivo do desenvolvimento sem outra especificação (PDD-NOS, do inglês *Pervasive Developmental Disorder - Not Otherwise Specified*) [ESD⁺12].

O mais conhecido desses é o autismo, uma doença que afeta o desenvolvimento do indivíduo de maneira global. Os sintomas geralmente aparecem após os três anos de idade e incluem comunicação e interação social debilitadas, gama de interesses bem restrita e comportamento repetitivo [Ass10, CJH11]. A forma como a informação é processada no cérebro é afetada, alterando o modo que as células nervosas se conectam e se organizam. Contudo, ainda não é bem compreendido de que maneira isto ocorre [LMS09].

Muito similar ao autismo quanto às causas e sintomas, a síndrome de Asperger diferencia-se, principalmente, pela ausência de atrasos significativos no desenvolvimento das funções de linguagem [Ass00]. Já o PDD-NOS é um transtorno com sintomas mais suaves que o autismo e a síndrome de Asperger, geralmente diagnosticado em pessoas cujos sintomas não evidenciam nenhuma outra desordem.

Em paralelo com deficit nas habilidades sociais e comunicativas, indivíduos com ASD experimentam uma série de deficiências motoras, incluindo deficit de controle motor básico [TTN⁺98, NMMA02, JGN⁺06] e redução da estabilidade

da postura [MSJF04, FKRea10].

As ASDs variam em relação a gravidade de sintomas, a idade em que os sintomas da doença se manifestam e a presença de outras desordens, como retardo mental e deficiências na linguagem [LM01, MKS⁺13, Mil11].

Presentes desde o nascimento ou muito cedo no desenvolvimento, ASDs perduram por toda vida, embora os sintomas possam diminuir com o tempo [SWP⁺13]. Além disso, podem ocorrer em associação com qualquer nível de capacidade intelectual e as manifestações variam de problemas sutis de compreensão e função social prejudicada, até deficiências graves (por exemplo, motoras ou intelectuais) [SIG07].

Ao longo do tempo, as manifestações dos sintomas podem variar de forma considerável tanto entre diferentes crianças quanto para uma mesma criança. Embora existam semelhanças fortes e consistentes, principalmente em relação ao deficit social, não existe um comportamento único que seja sempre típico de autismo ou de qualquer uma das ASDs e nenhum comportamento que exclua automaticamente uma criança do diagnóstico de ASD [LM01].

Tendo em vista que mesmo subtipos de ASD que possuem similaridade de sintomas - como o autismo de alto nível funcional e a síndrome de Asperger - exibem diferentes perfis de testes neuropsicológicos [GMK04] e padrões diferenciados de alterações estruturais cerebrais [MCC⁺09], é difícil chegar a conclusões específicas a partir do estudo de amostras heterogêneas de ASD [MKS⁺13].

Uma em cada cento e sessenta e seis crianças é diagnosticada com alguma ASD, numa proporção de quatro meninos para uma menina. Esse diagnóstico é elaborado, principalmente, com base em parâmetros comportamentais [CJH11], o que evidencia ainda mais a importância de estudos que busquem entender melhor tais distúrbios e aprimorar técnicas para permitir o diagnóstico automático das desordens. Além disso, cerca de 30% dos indivíduos diagnosticados com alguma ASD manifestam certo grau de retardamento mental, taxa que se eleva a 60% quando analisados apenas indivíduos do subtipo autista [ASN08].

2.1 Breve histórico

O autismo foi identificado sistematicamente por Kanner (1943) e Asperger (1944), cujas observações feitas sobre o comportamento em autismo permanecerem precisas ainda hoje. Ambos os trabalhos foram estudos de casos psiquiátricos de crianças e, embora não tenham fornecido um relato científico de autismo seja

a nível comportamental ou neurocientífico, sugeriram uma possível origem biológica para o distúrbio.

Apesar da identificação da doença na década de 1940, a pesquisa científica sobre o autismo manteve-se em pequena escala nos Estados Unidos da América até a década de 1990, quando novos métodos de neurociência cognitiva e social (genômica, rastreamento de movimento dos olhos e eletrofisiologia) foram desenvolvidos e passaram a ser aplicados ao autismo [JKM⁺12].

Durante muito tempo, existiam dúvidas em pelo menos três aspectos sobre ASDs: os sintomas diversos e aparentemente não relacionados; a não correspondência óbvia à uma função biológica particular; e a manifestação de vantagens perceptuais. No entanto, os avanços na compreensão científica do funcionamento do cérebro nas últimas duas décadas permitiram dar sentido a esses três aspectos: a diversidade dos sintomas pode agora ser entendida como a manifestação de um transtorno do sistema neural cujos impactos são generalizados; a relação com um substrato biológico está sendo desvendada por estudos de ressonância magnética funcional e estrutural, bem como pesquisas genômicas; e a compreensão do cérebro e cognição como um sistema complexo mostra como uma perturbação pode ter, simultaneamente, um impacto negativo e positivo no funcionamento do sistema [JKM⁺12].

2.2 Patogênese

A fisiopatologia precisa das ASDs ainda permanece incerta, exceto para as ASDs que ocorrem de forma conjunta a distúrbios neurológicos ou genéticos claramente definidos, como a esclerose tuberosa ou a síndrome de Rett [MKS⁺13].

Embora os mecanismos neurobiológicos precisos ainda não tenham sido estabelecidos, é evidente que as ASDs refletem a influência de fatores no cérebro enquanto este se desenvolve [LM01]. Até agora, fatores genéticos [Fre07], endócrinos [MJ07] e neuroimunes [PVZ05] têm sido associados com a patogênese de ASD.

Diferenças cerebrais em ASD são sutis, complexas e amplamente distribuídas em vez de localizadas em uma região anatômica bem definida. Isso pode explicar por que pesquisas das alterações de estruturas cerebrais ASD, como o cerebelo, a amígdala, o hipocampo e o corpo caloso até agora não conseguiram revelar um biomarcador robusto, por exemplo, tal como o volume do hipocampo tornou-se para a doença de Alzheimer.

2.3 Sobre o diagnóstico

As desordens do espectro autista são difíceis de se identificar, devido principalmente à coexistência de sintomas com outras perturbações psiquiátricas [GEFGS11].

Neste sentido, é essencial um diagnóstico preciso e confiável em indivíduos com ASD. Existem vários sistemas de diagnóstico para a classificação de ASDs. Dentre os mais comuns está o Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais (DSM-5, do inglês *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) [Ass13] da Academia Americana de Psiquiatria (APA, do inglês *American Psychiatric Association*), um manual produzido com o objetivo de facilitar o diagnóstico confiável de distúrbios mentais. De acordo com o DSM-5, os critérios para o diagnóstico de ASDs são:

1. Dificuldades persistentes na interação e comunicação social em diversos contextos, manifestadas por todos os itens seguintes:
 - Dificuldades na reciprocidade socioemocional;
 - Deficit nos comportamentos comunicativos não-verbais utilizados para a interação social;
 - Dificuldades no desenvolvimento, manutenção e compreensão das relações.
2. Padrões restritos e repetitivos de comportamento, interesses e atividades, manifestados por pelo menos dois dos seguintes:
 - Movimentos motores, uso de objetos ou de fala estereotipados ou repetitivos;
 - Adesão inflexível a rotinas ou padrões de comportamento verbal ou não-verbal ritualizados ;
 - Interesses inflexíveis altamente restritos que são anormais em intensidade ou foco;
 - Baixa ou alta reatividade a estímulos sensoriais ou interesse incomum em aspectos sensoriais do ambiente.
3. Os sintomas devem estar presentes no período inicial do desenvolvimento, mesmo que não se manifestem plenamente.

4. Os sintomas causam prejuízo clinicamente significativo nas áreas social e ocupacional ou outras áreas importantes de funcionamento.
5. Estes distúrbios não são melhor explicados por deficiência mental (trans-torno do desenvolvimento intelectual) ou pelo atraso no desenvolvimento global. É comum que a deficiência intelectual e ASDs ocorram em conjunto. Para fazer diagnósticos de comorbidade de ASD e deficiência intelectual, a comunicação social deve estar abaixo do esperado para o nível de desenvolvimento em geral.

Os primeiros sintomas de ASD envolvem, frequentemente, atraso no desenvolvimento da linguagem, muitas vezes acompanhado por falta de interesse ou interações sociais em si e padrão de comunicação incomum [Ass13].

Durante o segundo ano, comportamentos estranhos e repetitivos e a ausência de padrões típicos (normais) se tornam mais aparentes, contudo, a distinção de comportamentos restritos e repetitivos, que são parte do diagnóstico de ASD, pode ser difícil em crianças em idade pré-escolar [Ass13].

Atrasos motores também podem estar entre os primeiros sinais identificáveis que distinguem crianças com ASD de outras com desenvolvimento típico [ZBL⁺09]. Pesquisas indicam que uma das maneiras mais confiáveis de identificar resultados positivos em crianças para ASD pode ser uma avaliação das habilidades motoras aos 2 anos de idade [SPE⁺07].

2.4 Conectividade em ASD

Essas dificuldades na execução de atividades motoras observadas em ASD podem ter relação tanto com anormalidades estruturais quanto funcionais dentro das redes cerebrais responsáveis pelo controle motor e de aprendizagem. Estudos em neuroimagem estrutural relataram um crescimento excessivo de conexões corticais localizadas em crianças com ASD. De modo geral, a tendência é que estas propriedades alteradas dos tecidos neurais ganhem influência, assim, as anormalidades cerebrais em ASD afetam cada vez mais regiões e sistemas funcionais ao longo do desenvolvimento [NJM⁺14].

Podemos perceber que o diagnóstico em ASD é efetuado principalmente com base em parâmetros comportamentais. Isto pode ser indesejado, uma vez que torna difícil obter um diagnóstico padrão. Assim, há um crescente interesse por estudos que buscam entender as características das ASDs, encontrar biomarcadores que talvez no futuro poderão ser utilizados para diagnóstico automatizado.

A base neural das dificuldades apresentadas anteriormente por indivíduos ASD está na hipótese de que existe um desequilíbrio entre conexões locais e distantes entre regiões do cérebro: um excesso de conectividade local [RM03] combinado com subconectividade de longa distância [JCK⁺07, CP05, MVTN04, BBBR02].

A hipótese da conectividade tem sido um importante tema de estudo e discussão em pesquisas sobre ASD [LBBT14]. Segundo a “teoria da subconectividade”, o autismo é um distúrbio cognitivo e neurobiológico marcado e causado pelo sub-funcionamento dos circuitos integrados, o que resulta em um déficit de integração de informações nos níveis neural e cognitivo [MVTN04]. A teoria surgiu a partir de medidas de ativação cortical em vários tipos de tarefas que exigem pensamento, identificadas por fMRI (ressonância magnética funcional, do inglês *functional magnetic resonance imaging*) [JKM⁺12].

Nos últimos anos, a “teoria da subconectividade” atraiu considerável atenção devido a uma série de estudos que têm relatado correlações funcionais abaixo do esperado entre regiões durante uma série de tarefas e marcadores de conectividade estrutural desordenada em indivíduos com ASD por meio de imagens por tensores de difusão [KKK⁺08, Was11, SKM⁺08].

Estes estudos mostraram que o nível de conectividade funcional entre as regiões cerebrais frontal e posterior foi inferior no autismo. A observação foi feita pela primeira vez em uma tarefa de compreensão de linguagem, e, desde então, a subconectividade durante o desempenho de tarefas foi observada entre o lobo frontal e regiões mais posteriores em uma ampla variedade de outras tarefas [MVTN04, JKM⁺12, KKK⁺08].

Além das diferenças de conectividade entre indivíduos ASD e controles, existem evidências - demonstradas por meio de autópsias e neuroimagens - de que os indivíduos com ASD apresentam também anormalidades neuroanatômicas [ASN08, SMS⁺08, TMM05]. Esses estudos mostram, por exemplo, que pessoas com ASD tem volume e peso cerebral aumentado, o que afeta tanto a massa cinzenta quanto a branca [PABA96, HPG⁺05, CKD⁺01].

Essas diferenças anatômicas são mais proeminentes durante os primeiros anos de vida e podem ser menos aparentes durante a adolescência e idade adulta [MDK⁺02, HDM⁺09, AMF⁺02]. Por este motivo, a maioria dos estudos tem-se centrado em crianças, resultando em relativamente pouco conhecimento sobre a grande população de adultos com ASD que, atualmente, cresce muito em número de diagnósticos [ESD⁺12].

Apesar dos recentes avanços na compreensão das ASDs, ainda não foi desco-

berto um biomarcador robusto de ASD em estudos de imagens médicas, assim, o diagnóstico da doença continua a ser efetuado com enfoque principal em parâmetros comportamentais e as bases das ASDs ainda possuem questionamentos suficientes para continuarem a ser estudadas.

Capítulo 3

Ressonância magnética funcional

Ressonância magnética funcional (fMRI, do inglês *functional magnetic resonance imaging*) é uma técnica não invasiva em neuroimagem que pode ser utilizada para estudar a função do cérebro humano *in vivo*. A ressonância magnética funcional estende o uso de ressonância magnética para fornecer informações sobre a função biológica do cérebro, além da informação anatômica. Seiji Ogawa demonstrou pela primeira vez em 1990 que pela da medição do sinal *blood-oxygenation-level-dependent* (BOLD), a ressonância magnética funcional poderia ser aplicada para visualizar a função cerebral [OLKT90, OTM⁺92].

Passadas as últimas duas décadas, a técnica de ressonância magnética funcional atingiu grande desenvolvimento, sendo sua descoberta considerada um dos eventos mais espetaculares e bem sucedidos da história da imagiologia médica [VB03]. Compreender o funcionamento do cérebro e localizar áreas funcionais têm sido desde então um objetivo principal da neurociência, com fMRI sendo uma ferramenta muito poderosa para abordar este objetivo [UJ10].

Há inclusive um crescente interesse da comunidade científica pelo tema, com a aplicação da técnica no estudo das mais diversas áreas, como identificar características funcionais da visão, funções motoras, da linguagem e memória em pacientes normais e portadores de alguma desordem. Isto pode ser observado no número de publicações que mencionam o termo fMRI no título ou resumo, conforme pesquisa efetuada no PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) em 16 de novembro de 2014 representada na Figura 3.1.

O método mais comum de ressonância magnética funcional (BOLD fMRI) baseia-se no fato de que quando os neurônios são ativados, a quantidade de sangue que flui pela área onde os neurônios se localizam é aumentada [PMN11]. De fato, a ideia de que o fluxo sanguíneo cerebral (CBF, do inglês *cerebral blood flow*)

poderia refletir a atividade neuronal é antiga e começou com os experimentos de Roy e Sherrington em 1890 [FM10].

Além disso, quando a hemoglobina - a molécula no sangue que transporta oxigênio (O_2) - perde O_2 para se tornar desoxihemoglobina, as propriedades magnéticas mudam de uma maneira sutil. O efeito resultante é que o sinal de ressonância magnética muda ligeiramente (resposta hemodinâmica), aumentando quando o sangue torna-se mais oxigenado. Este fenômeno sozinho, apesar de interessante de um ponto de vista biofísico, só se torna útil quando combinado com o fenômeno fisiológico descrito de forma breve anteriormente: quando uma área do cérebro é ativada, o fluxo de sangue aumenta muito mais do que a taxa metabólica de oxigênio ($CMRO_2$). Isto leva a uma redução da fração de consumo de O_2 , um cenário aparentemente paradoxal no qual o sangue venoso é mais oxigenado, apesar do aumento da $CMRO_2$, porque o fluxo sanguíneo aumentou mais. Tomados em conjunto, estes dois fenômenos produzem o efeito BOLD, que pode ser entendido como um aumento local do sinal ressonância magnética, devido a uma redução da fração de consumo de oxigênio durante o aumento da atividade neuronal [Bux09]. Estes conceitos podem ser observados na representação da Figura 3.2. Adicionalmente, a Figura 3.3 representa um equipamento para aquisição de dados fMRI.

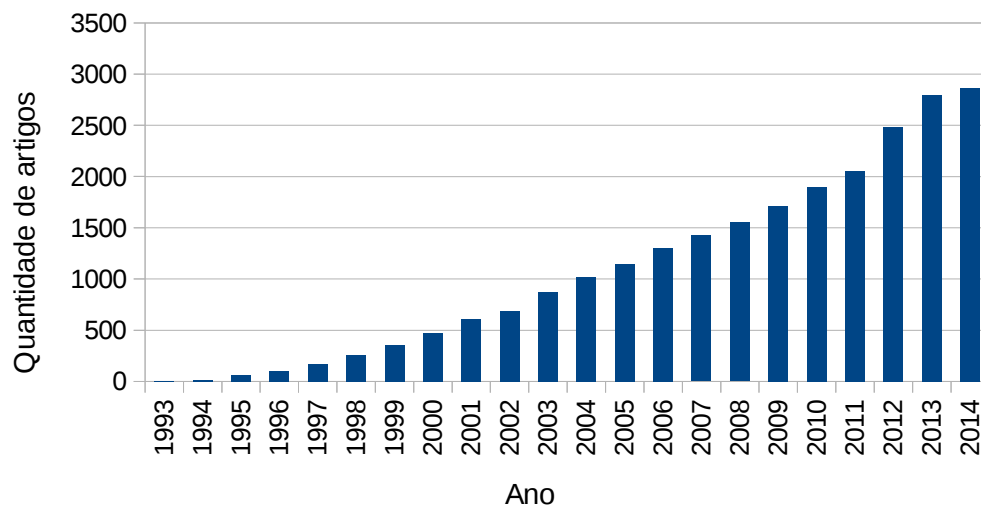


Figura 3.1: Número de publicações científicas com o termo fMRI no título ou resumo segundo o PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) conforme pesquisa efetuada em 16 de novembro de 2014. Perceba que o ano de 2014 não está completamente representado.

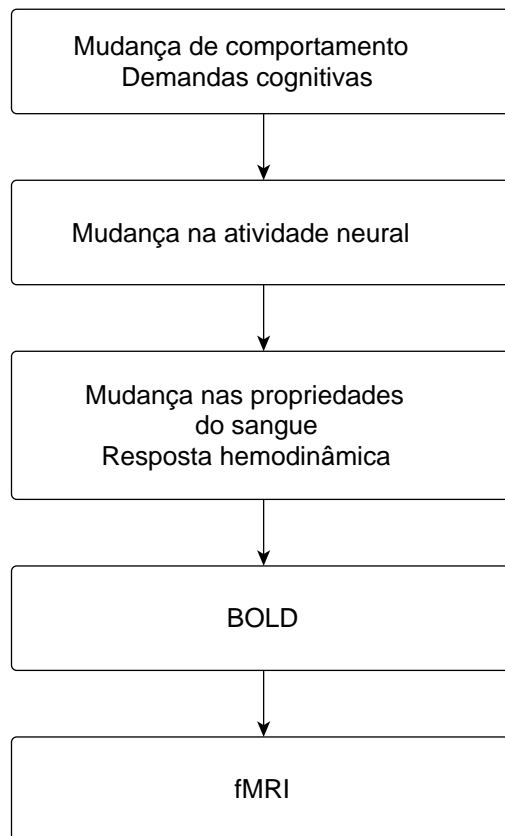


Figura 3.2: *Esquema: da mudança do comportamento ao sinal fMRI. Demandas cognitivas, por exemplo a fala ou a visão, causam alterações na atividade neural de determinadas regiões do cérebro. A demanda por oxigênio cresce e, devido ao sinal BOLD é possível obter, ao longo do tempo, um mapa funcional para regiões pré-definidas ou o cérebro todo.*

A produção de um mapa de atividade cerebral de um voluntário ou paciente a partir de dados obtidos com uma imagem de ressonância magnética (MRI, do inglês *magnetic resonance imaging*) requer uma gama bastante ampla de conhecimentos e técnicas interdisciplinares. A produção de mapas cerebrais fMRI requer técnicas e conhecimentos de neuropsicologia cognitiva, física, engenharia, matemática e estatística.

O processo começa tipicamente com um questionamento em psicologia cognitiva que pode ser respondido, pelo menos em parte, por meio da combinação do conhecimento obtido a partir de mapas de atividade do cérebro com o conhecimento prévio da função de regiões específicas do cérebro. O conhecimento prévio da função cerebral de cada região geralmente tem sua origem em estudos de lesões onde a doença ou lesão causou a remoção de uma região do cérebro do paciente (e por consequência a função desta região). Tal conhecimento com

base nas lesões estabeleceu firmemente o princípio da segregação de funções no cérebro, onde regiões específicas são responsáveis por funções específicas.

O uso de fMRI para produzir mapas de ativação permite que perguntas específicas sobre a segregação funcional possam ser levantadas e investigadas, sem risco para a pessoa que está sendo estudada, uma vez que a técnica é não invasiva. O cérebro também é conhecido por ser um sistema muito complexo, em que várias regiões, trabalhando em cooperação, são necessárias para algumas tarefas. Esta cooperação entre as regiões é conhecida como integração funcional e pode ser estudada pelo uso de técnicas de ressonância magnética que levam a mapas ou redes de conectividade [Sar06].

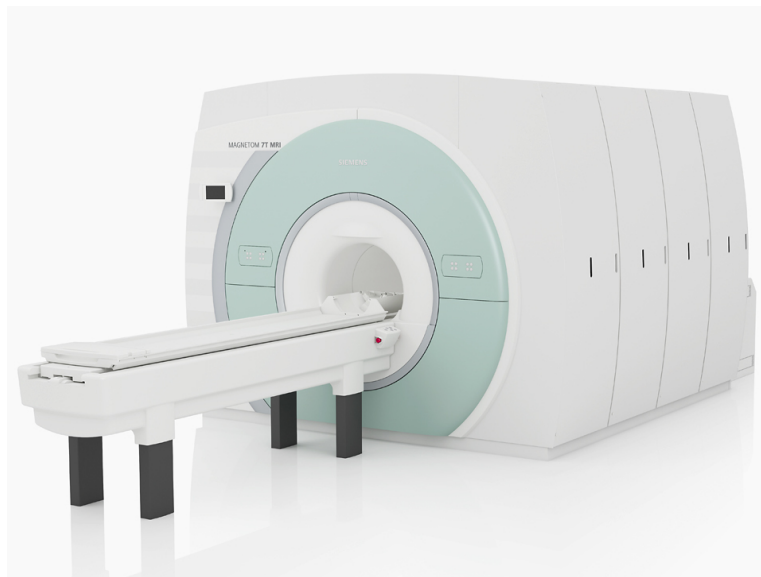


Figura 3.3: Exemplo de equipamento para ressonância magnética, o Siemens MAGNETOM 7T (<http://www.healthcare.siemens.com/magnetic-resonance-imaging/7t-mri-scanner/magnetom-7t>).

A ideia que motiva análises das interações entre as regiões do cérebro é que os processos cognitivos resultam de tais interações. Isto é, os processos tais como operações de memória ou de atenção não resultam do funcionamento de áreas cerebrais individuais, mas sim da colaboração entre diversas áreas. Apesar do uso de fMRI impulsionar as pesquisas nesta área, esta não é uma nova perspectiva única para o campo de imagiologia neuro-funcional. Existe um longo histórico de estudos de anatomia, neuropsicologia e estudos fisiológicos que colaboraram para esta ideia [CK06].

O campo da neurociência possui o desafio constante da compreensão dos mecanismos de funcionamento do cérebro humano e suas funções complexas como

a percepção, o comportamento e as emoções. Em áreas como psicologia clínica, neurofisiologia e neurociências, há um grande interesse em descrever funções neuronais tanto quantitativa quanto qualitativamente. Amostras consideradas típicas são comparadas àquelas consideradas como de condições de alguma desordem (autismo, epilepsia, alzheimer, etc.) para depois utilizar esse conhecimento para fins de diagnóstico [FM10].

A Figura 3.4 representa uma ideia dos dados obtidos por fMRI. Cada volume representa uma imagem tridimensional (3D) do cérebro obtida a cada instante de tempo. Cada ponto desta imagem é chamado de *voxel*, semelhante a um *pixel* para uma imagem digital. Como são obtidas diversas imagens ao longo do tempo, para cada *voxel* temos uma série temporal, e assim, de forma genérica uma amostra fMRI pode ser representada por uma matriz de quatro dimensões (4D). É importante observar que a medição de atividade funcional por fMRI é indireta, com base na resposta hemodinâmica devido às propriedades do sangue explicadas anteriormente e não na atividade neural propriamente dita.

Devido a lentidão da resposta hemodinâmica, obter alta resolução temporal torna-se uma tarefa difícil em fMRI, mesmo que as imagens possam ser obtidas rapidamente. Tipicamente, as alterações do sinal hemodinâmico são observadas um ou dois segundos após o início da estimulação neural e atinge o máximo em quatro a oito segundos [FM10].

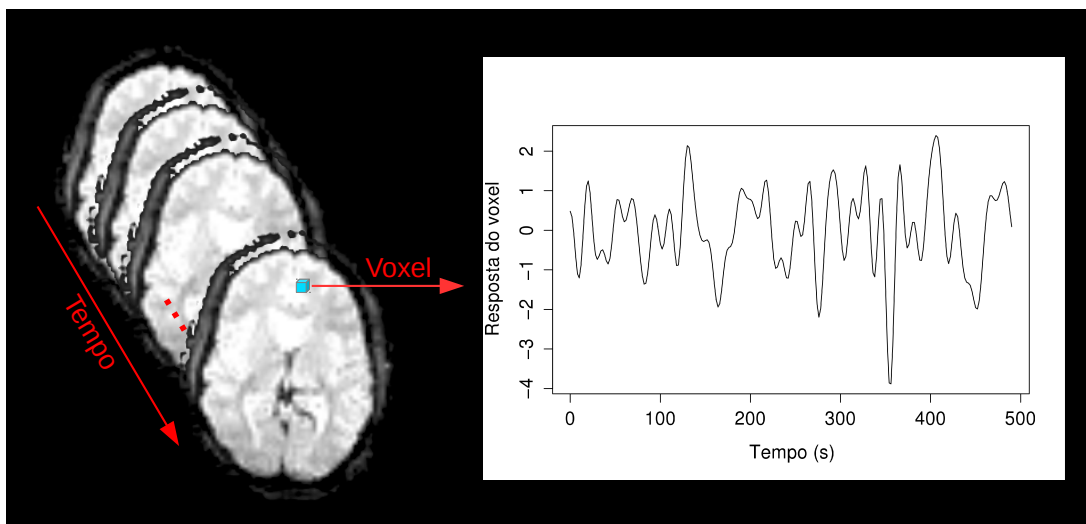


Figura 3.4: Exemplo da série temporal fMRI: resposta de um determinado voxel em função do tempo. A cada instante entre intervalos espaçados é adquirido um volume (uma imagem completa 3D do cérebro). Como são adquiridas diversas imagens ao longo do tempo, uma série temporal pode ser definida para cada ponto (voxel) da imagem.

As próximas seções buscam fornecer uma base dos passos necessários para, a partir de amostras BOLD fMRI brutas, conseguir efetuar uma análise estatística entre amostras e visualizar os resultados.

3.1 Pré-processamento de dados

Em um mundo ideal, as imagens BOLD fMRI seriam adquiridas instantaneamente, o cérebro estaria parado e possuiria forma uniforme quando comparado a outros indivíduos. Infelizmente, este não é o caso, além de que dados de fMRI são muito ruidosos, provenientes de uma grande variedade de fontes, por exemplo do próprio sistema de aquisição, como variações no campo magnético, bem como pelo fato do paciente ser um humano e se movimentar.

Existem duas abordagens principais para tratar ruídos em fMRI, as quais são geralmente utilizadas em conjunto. A primeira abordagem visa controlar o ruído pela manipulação adequada do ambiente de aquisição. Apesar de um controle cuidadoso do ambiente de imagem colaborar para a diminuição dos ruídos, nem todo ruído pode ser removido desta maneira. Então, é necessário executar algum pré-processamento antes da análise estatística. Pacotes de software diferentes permitem realizar isso de maneiras distintas, e mesmo laboratórios que utilizam o mesmo software pré-processam os dados de forma diferenciada [Laz08].

De modo geral, o pré-processamento tem dois objetivos principais. Primeiro, reverter deslocamentos e distorções dos dados no tempo ou no espaço que podem ter ocorrido durante a aquisição, e finalmente de aumentar a capacidade de detectar sinais espacialmente estendidos entre indivíduos [FM10]. Nesta seção, serão brevemente apresentadas algumas etapas de pré-processamento comuns na análise de dados de ressonância magnética funcional .

3.1.1 Correção da temporização das fatias

Na abordagem mais comum de aquisição em ressonância magnética funcional, os dados são capturados utilizando aquisição bidimensional (2D). Assim, um único volume de dados de fMRI, coletadas durante um tempo de repetição (TR, do inglês *repetition time*), é montado a partir de múltiplas aquisições planares (fatias), adquiridas uma por vez. As fatias são adquiridas em ordem crescente ou decrescente, entretanto, existe outro método conhecido como aquisição intercalada, no qual são adquiridas metade das fatias (por exemplo, as fatias ímpares) seguidas pela outra metade (por exemplo, as fatias pares).

O uso de aquisição 2D significa que dados em diferentes partes da imagem são adquiridas em tempos diferentes, entretanto, a maioria dos esquemas de análise de dados assume que cada *voxel* foi amostrado exatamente ao mesmo tempo. A correção da temporização das fatias (do inglês *slice timing correction*) foi criada para tratar estas diferenças entre o tempo de aquisição das fatias [PMN11, FM10, Laz08].

A abordagem mais comum para a correção de temporização envolve escolher uma fatia de referência e, em seguida, interpolar os dados em todas as outras fatias para coincidir com a temporização da fatia de referência. Assim, no conjunto de dados, cada fatia passa a representar a atividade funcional no mesmo instante no tempo. Para aplicar a correção, é necessário saber o momento exato da aquisição, o que difere entre scanners e configuração para cada experimento [PMN11].

3.1.2 Correção de movimento

Em fMRI, os artefatos relacionados a movimento são aqueles que mais influenciam a qualidade dos exames. Até a melhor das amostras, ainda que seja solicitado ao indivíduo que permaneça em estado de repouso, irá apresentar movimentação. O movimento cerebral provém de muitas fontes, tais como o movimento voluntário do indivíduo a ser examinado ou mesmo movimento na ordem de milímetros associados com os ciclos respiratórios e cardíacos e pode perturbar a capacidade de adquirir dados fMRI com qualidade [PMN11, CK06].

Além disso, outro problema com a movimentação é que em muitos casos ela estará relacionada com as próprias tarefas do experimento. Por exemplo, se o experimento envolver fala, músculos da face serão utilizados, o que poderá influenciar na posição da cabeça. O indivíduo também pode se movimentar como resposta a uma tensão psicológica durante tarefas cognitivas ou até ao próprio ambiente de captura.

As primeiras abordagens para tratar problemas de movimentação são aquelas que buscam evitar que a movimentação do paciente ocorra com o preparo adequado do ambiente de aquisição. Uma variedade de métodos é utilizada com esta finalidade, como o enchimento de espuma ao redor da cabeça, barras para morder, máscaras termoplásticas, etc. Apesar destes esforços, a presença de movimentação da cabeça é inevitável. Portanto, um passo comum de pré-processamento de dados é a tentativa de corrigir os efeitos deste movimento.

Ferramentas de correção de movimento geralmente assumem que o movimento

da cabeça pode ser descrito utilizando uma transformação de corpo rígido (do inglês *rigid body transformation*), o que significa que a posição da cabeça pode mudar (por translação ou rotação ao longo de cada um dos três eixos), mas a forma da cabeça não [PMN11].

De modo geral, esta correção é geralmente feita pelo realinhamento da imagem do cérebro obtida em cada ponto no tempo de volta para a primeira imagem adquirida no início da sessão de captura (imagem alvo). A maioria dos métodos utiliza a hipótese do corpo rígido, descrita anteriormente, para calcular os seis movimentos possíveis (três translações e três rotações) em cada ponto no tempo que minimizam a diferença da imagem realinhada em cada instante do tempo e a imagem alvo [FM10].

Uma vez que os parâmetros tenham sido estimados, são então utilizados para deslocar a imagem em cada instante de tempo para a imagem alvo utilizando interpolação (polinomial, linear, Fourier, etc.) [Laz08].

É importante ressaltar que a correção de movimento desta forma não remove completamente os efeitos do movimento sobre o sinal de fMRI. Isto ocorre porque o movimento do cérebro altera o sinal obtido em diferentes pontos na aquisição da fatia. Como resultado, mesmo após o realinhamento do cérebro para a sua posição original, os artefatos de sinal induzidos pelo movimento podem permanecer nas séries temporais [FM10].

O tema de pré-processamento de dados fMRI é demasiadamente extenso e não é objetivo deste trabalho prover uma base extensa do assunto. Assim, a próxima subseção irá abordar ferramentas que podem ser utilizadas com o objetivo de pré-processar dados fMRI.

3.1.3 Pipeline de pré-processamento

Programas como o SPM (do inglês *Statistical Parametric Mapping* - <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) e o AFNI (<http://afni.nimh.nih.gov/afni>) fornecem uma série de ferramentas que permitem pré-processar dados MRI e fMRI. Inclusive, existem sequências de passos disponíveis nestes programas ou em páginas na rede mundial de computadores configuradas em arquivos de lote com etapas comumente utilizadas no pré-processamento de MRI e fMRI. O Athena Pipeline (<http://www.nitrc.org/plugins/mwiki/index.php/neurobureau:AthenaPipeline>) é um deles e foi o padrão de pré-processamento aplicado a este trabalho.

As etapas utilizadas estão descritas na Figura 3.5. O Athena Pipeline pré-processa tanto os dados estruturais quanto funcionais, entretanto, como as análi-

ses deste trabalho aplicam-se apenas a dados fMRI, apenas o pré-processamento deste tipo de dados está descrito.

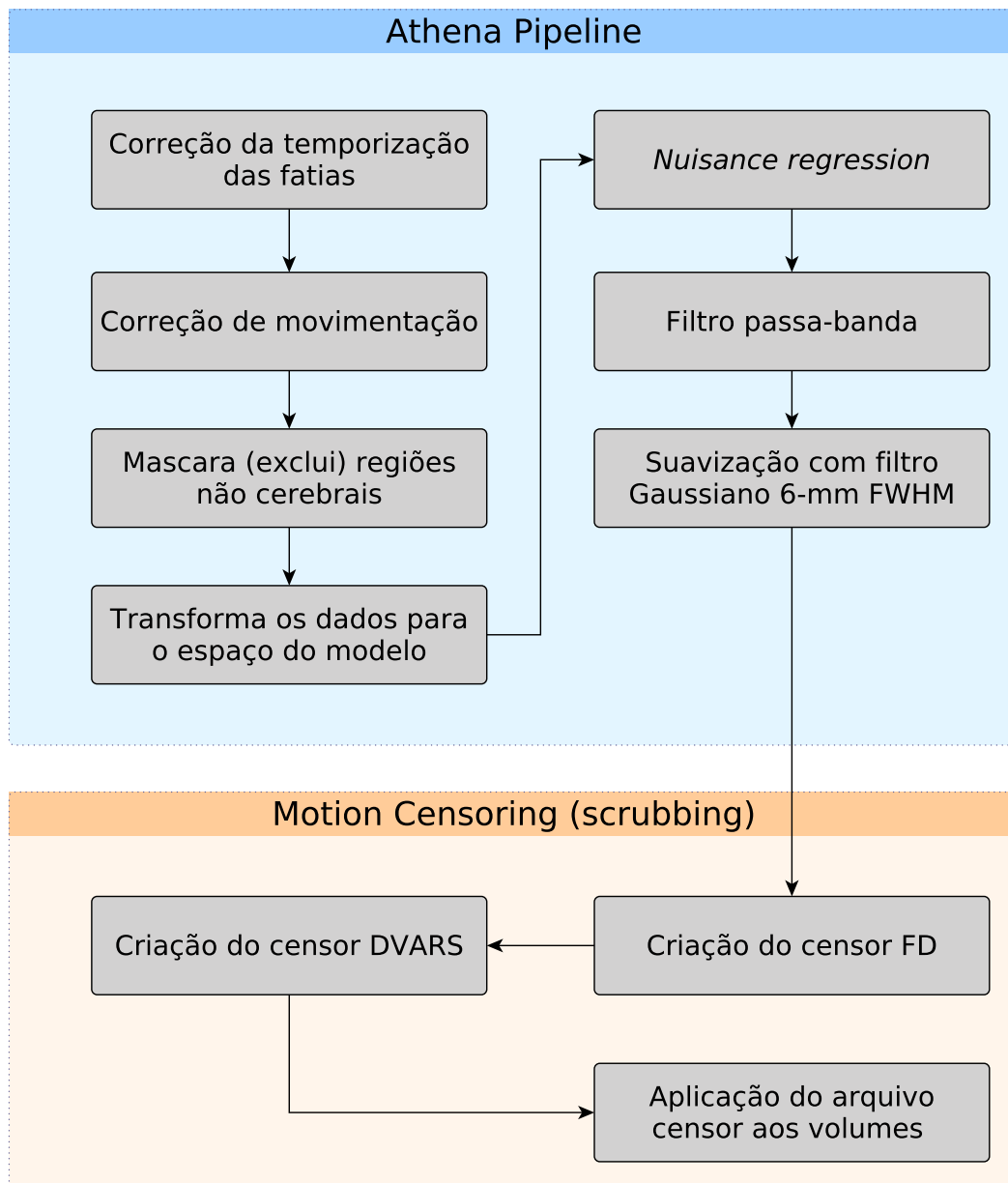


Figura 3.5: Etapas de pré-processamento dos dados fMRI.

O Athena Pipeline utiliza funcionalidades dos programas AFNI e FSL (*FM-RIB Software Library* - <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>) para pré-processar os dados.

O realinhamento espacial, uma das etapas do Athena (correção de movimentação), corrige deslocamentos induzidos por movimento no espaço, mas não corrige as alterações de intensidade resultantes da interrupção dos estímulos físicos

próprios da técnica de MRI (ver subseção 3.1.2). Por isso, conforme representado na Figura 3.5, também foi efetuada a correção *scrubbing* [PBS⁺12]. A técnica baseia-se no uso dos parâmetros de movimentação estimados na correção de movimento e nas mudanças de intensidade entre cada ponto da série temporal de cada *voxel* para criar, respectivamente, os indicadores de qualidade FD (do inglês *framewise displacement*) e DVARS (do inglês *temporal Derivative of timecourses - RMS VARIance over voxels*), que definem quais volumes devem ser removidos da série temporal.

3.2 Visualização dos resultados

Após ser efetuada a análise estatística dos dados de fMRI, geralmente será de interesse do pesquisador observar quais regiões do cérebro proveram quais resultados. Desde modo, primeiro será necessário escolher um programa que permita a visualização das imagens de ressonância magnética, geralmente nas três orientações canônicas em conjunto, e adicionalmente a visão renderizada em três dimensões (3D). O FSLView (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslview/>) (parte do pacote FSL) e o MRICron (<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/>) são exemplos de programas que podem ser utilizados com esta finalidade. O SPM, uma *toolbox* do programa MATLAB muito utilizada para o pré-processamento e análise de dados de imagem cerebral, também provê funcionalidades semelhantes.

Os resultados precisam ser sobrepostos na anatomia do cérebro (veja a Figura 3.6) para disponibilizar informações suficientes para que o pesquisador compreenda mais facilmente a localização de cada resultado, assim, é necessário escolher uma imagem anatômica para servir como plano de fundo [PMN11].

3.3 Sistema de coordenadas

As imagens de ressonância magnética são representações das estruturas físicas do cérebro, assim, é necessário relacionar de alguma maneira os pontos na imagem com as localizações espaciais do objeto físico, o que é feito pelo uso de um sistema de coordenadas. A matriz de dados de uma única imagem de cérebro é normalmente tridimensional (considere que uma amostra fMRI é formada por várias imagens ao longo do tempo e portando quadrimensional), de tal modo que cada uma das dimensões na matriz corresponde a uma dimensão no espaço físico. Por convenção, estas dimensões (ou eixos) são chamados de X , Y e Z . No

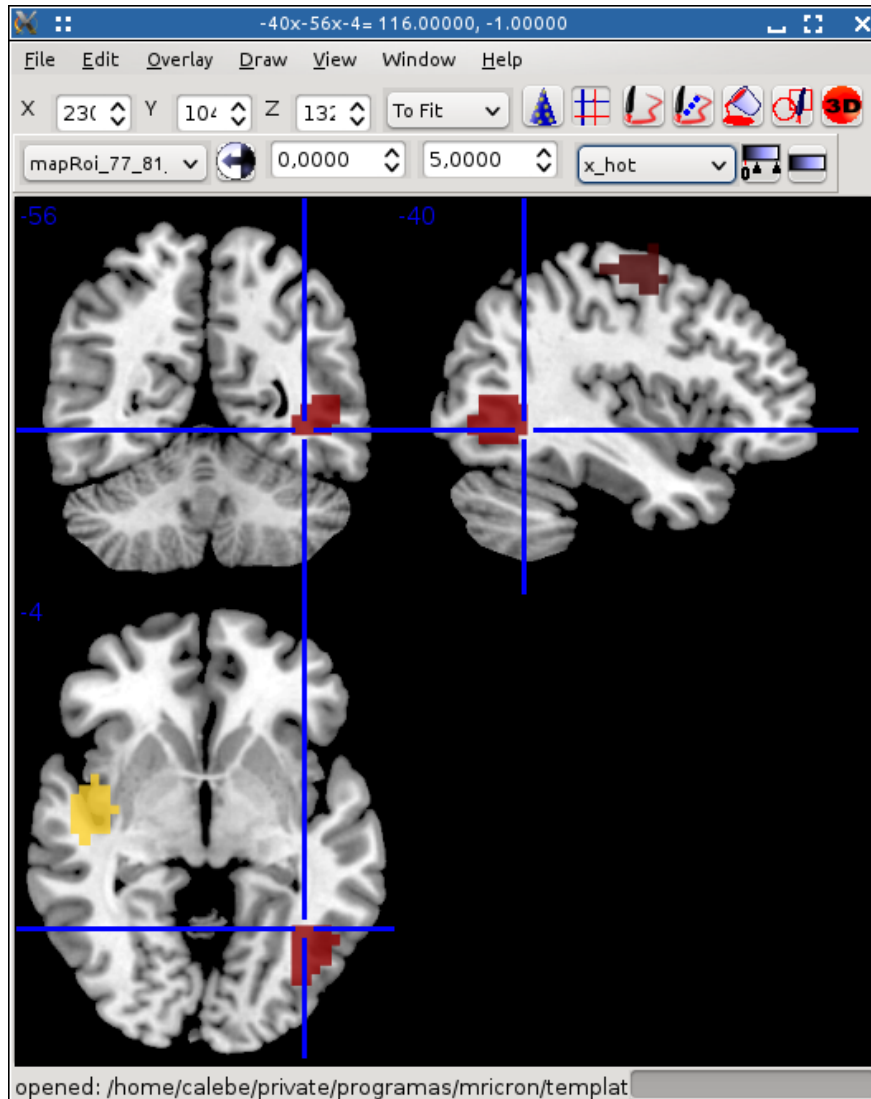


Figura 3.6: Exemplo de sobreposição dos resultados de uma análise por ROIs em uma imagem anatômica no programa MRICron. As regiões coloridas representam locais do cérebro tidos como importantes para o método de análise utilizado. A sobreposição destas regiões em uma imagem estrutural permitirá ao pesquisador observar em quais regiões do cérebro o efeito ocorre. Como o cérebro é uma estrutura 3D preenchida, para observar a região interior, é comum que as imagens sejam representadas em três cortes (sagital, axial e coronal).

espaço padrão utilizado para dados de neuroimagem, X representa a dimensão esquerda-direita, Y representa a dimensão anterior-posterior e Z representa a dimensão inferior-superior [PMN11].

A Figura 3.7 providencia a representação dos três eixos em uma imagem estrutural com os cortes sagital (plano YZ), axial (plano XY) e coronal (plano XZ). Observe que o lado esquerdo do cérebro está representado no lado esquerdo

da imagem, conforme a convenção neurológica. Por outro lado, na convenção radiológica, o lado esquerdo da imagem representa o lado direito do cérebro.

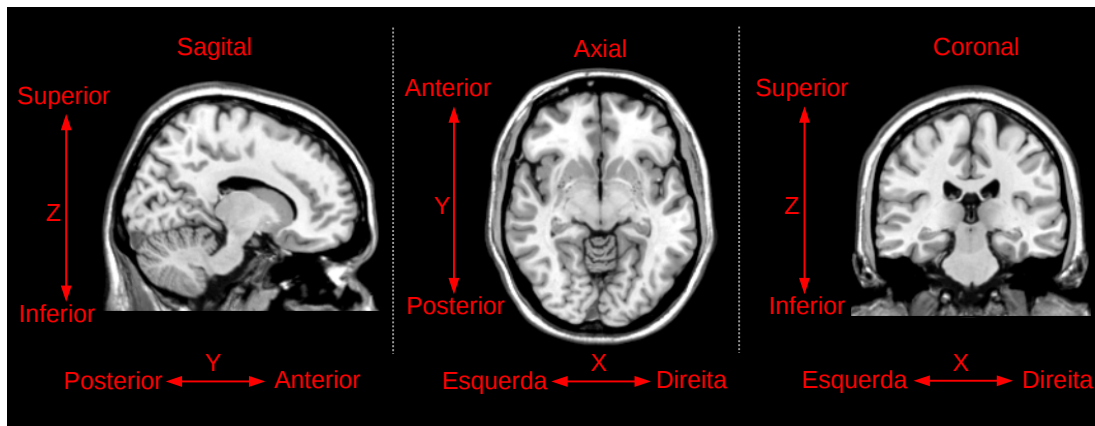


Figura 3.7: Espaço de coordenadas padrão em neuroimagem. Este sistema define uma nomenclatura padrão para cada um dos três eixos: X representa a dimensão esquerda-direita, Y representa a dimensão anterior-posterior e Z representa a dimensão inferior-superior.

3.4 Atlas e modelos

Um atlas fornece um guia para a localização de características anatômicas em um espaço de coordenadas. Com o uso de um atlas, por exemplo, é possível identificar a região anatômica do cérebro que se localiza um *voxel* ou região de interesse (ROI, do inglês *region of interest*) e relacionar o resultado de uma análise com as funções típicas conhecidas desta região e o objeto de estudo (atividade cognitiva, lesão, distúrbio, etc.).

Por outro lado, um modelo (do inglês *template*) é uma imagem representativa do atlas e consiste no padrão para o qual as imagens individuais das amostras podem ser alinhadas. Um modelo pode ser definido pela imagem de um único indivíduo ou uma média de um número de indivíduos.

Considerando que os atlas são úteis para a localização das regiões de ativação e interpretação dos resultados, os modelos desempenham um papel central na normalização espacial dos dados de MRI para diminuir as chances de identificações errôneas [PMN11].

3.4.1 Atlas Talairach

O atlas Talairach é o atlas do cérebro mais conhecido. Este atlas fornece um conjunto de seções sagitais, coronais e axiais que foram marcadas pela estrutura anatômica e áreas de Brodmann. Existe também um processo que permite normalizar qualquer cérebro para os atlas, usando o conjunto de marcadores anatômicos. Uma vez que os dados foram normalizados de acordo com o procedimento de Talairach, o atlas fornece uma maneira aparentemente simples para determinar a localização anatômica de qualquer região.

Apesar deste atlas ter tido um papel importante no desenvolvimento do campo de neuroimagem, é problemático e seu uso é desaconselhado [PMN11]. Dentre suas características que causam rejeição, podemos citar:

1. Não é representativo de nenhuma população, pois baseia-se no estudo de um único cérebro de uma mulher de 60 anos de idade.
2. O processo de normalização para o atlas é impreciso e não há consenso sobre como isto deve ser efetuado.
3. É baseado apenas no hemisfério esquerdo do cérebro, o qual foi espelhado para formar o hemisfério direito. Isto é particularmente problemático porque é comum existirem assimetrias entre os hemisférios do cérebro.
4. O mapeamento das regiões é consideravelmente incerto, de acordo com o próprio autor do atlas.

Em relação à normalização espacial, um problema importante é que não há nenhuma ressonância magnética disponível para o indivíduo em quem o atlas baseia-se, deste modo, não há como criar um modelo MRI preciso. Isto significa que a normalização para o modelo requer a identificação de marcadores anatômicos que são então usados para orientar a normalização. Este tipo de normalização tem sido rejeitada em favor de processos de registo automáticos que utilizam modelos baseados em imagens.

3.4.2 Modelos MNI

Os modelos mais comuns utilizados para a normalização espacial são aqueles desenvolvidos no Instituto Neurológico de Montreal (*Montreal Neurological Institute and Hospital*), conhecidos como MNI *templates*. Esses modelos foram

criados para permitir registro de forma automatizada em imagem por ressonância magnética.

O primeiro modelo amplamente utilizado, conhecido como MNI305, foi criado a partir do alinhamento de um conjunto de 305 imagens para o atlas Talairach usando registro baseado em marcadores, criando uma média dessas imagens. Depois, cada imagem foi realinhada para a imagem média utilizando *affine registration* com nove parâmetros [PMN11].

Posteriormente, um outro modelo, conhecido como ICBM-152, foi desenvolvido pelo registro de um conjunto de imagens em alta resolução para o MNI305. As versões do ICBM-152 são incluídas nos principais pacotes de software em neuroimagem. Como existem pequenas diferenças entre o MNI305 e o ICBM-152, as imagens resultantes podem ser diferentes em tamanho e posicionamento, dependendo de qual deles é utilizado [PMN11]. Nos experimentos deste trabalho, foi utilizado o MNI NIHPD Objective 1 atlas [FEM⁺09, FEB⁺11].

3.5 Região de interesse

Numa análise por região de interesse (ROI, do inglês *region of interest*), o sinal de ressonância magnética funcional caracteriza-se dentro de uma região definida e é analisada como um agregado em vez de *voxel* por *voxel*.

O interesse pela escolha de uma análise baseada em ROIs pode ser justificado por diversos motivos. Uma razão é a de controlar a incidência de erro do Tipo I (quando a hipótese nula é rejeitada sendo ela verdadeira), limitando o número de testes estatísticos para algumas ROIs ao invés de dezenas de milhares de *voxels*. Como a correção dos resultados do cérebro inteiro para testes múltiplos - por exemplo por Bonferroni ou FDR (do inglês *false discovery rate*) - pode ser bastante conservadora, muitas vezes é preferível limitar a análise para um conjunto predefinido de ROIs, reduzindo assim o número de testes estatísticos a serem controlados.

Uma segunda razão é a de limitar a análise para uma região que é funcionalmente definida com base em alguma outra informação, como estudos prévios. Finalmente, a análise por ROIs pode ser utilizada para interpretar os resultados significativos de um teste. Muitas vezes, pode ser difícil discernir o padrão de atividade nas diferentes condições de um mapa estatístico global do cérebro, assim, pode ser útil visualizar o resultado dividido em áreas de interesse [PMN11].

3.5.1 Definição das ROIs

As ROIs podem ser definidas em termos de características estruturais ou funcionais. As ROIs funcionais são geralmente baseadas na análise de dados do próprio indivíduo. Já as ROIs estruturais são usualmente definidas com base em anatomia macroscópica. Em muitos casos, a melhor prática é definir tais ROIs para cada indivíduo com base na sua própria anatomia, uma vez que pode não haver uma variabilidade substancial entre os indivíduos na anatomia macroscópica. Desenvolvimentos recentes na rotulagem anatômica automatizada oferecem a promessa de rotulagem altamente confiável de estruturas corticais e subcorticais em imagens anatômicas individuais, com um mínimo de intervenção manual, embora continuem a ser importante confirmar estes resultados com a anatomia real [PMN11].

Uma prática comum que requer cuidado extremo é o uso de ROIs com base em atlas anatômicos constituídos a partir de um único indivíduo, tal como o atlas AAL (*Automated Anatomical Labeling*) [TMLP⁺02] ou Talairach, conforme discutido anteriormente. Devido à incapacidade de normalização espacial para ajustar perfeitamente cérebros de diferentes indivíduos, haverá erros de sobreposição entre qualquer grupo de sujeitos e estes atlas.

A Figura 3.8 representa dois atlas que podem ser utilizados para a definição de ROIs, um estrutural (AAL) e outro funcional (CC400), disponibilizado pelo Athena e construído por um procedimento de clusterização espectral [CJH⁺12].

Uma vez que os sinais dos *voxels* de cada ROI do atlas escolhido tenham sido extraídos, precisarão ser resumidos de alguma forma para formar um sinal único, representativo da ROI. O método mais simples e comumente utilizado consiste em simplesmente calcular a média do sinal extraído dos *voxels* dentro da ROI. Por outro lado, no SPM, o método padrão consiste em calcular o primeiro componente principal do sinal. A intuição por trás deste método é que, se existirem vários processos que ocorrem dentro da região, o primeiro componente principal irá refletir o mais forte desses processos, enquanto que a média irá refletir uma combinação deles. Um exemplo é o caso em que há dois *voxels*, um ativado e outro desativado dentro de uma única ROI. O primeiro componente principal seria um reflexo do maior deles, enquanto que a média poderia tender a zero.

Um problema do uso de análise por ROIs é que, quando grandes ROIs anatômicas são utilizadas (por exemplo, todo o giro temporal superior), mesmo que a região contenha *voxels* significativamente ativos, esta ativação pode ocorrer em apenas uma pequena proporção de *voxels* na ROI. Isso sugere que simplesmente

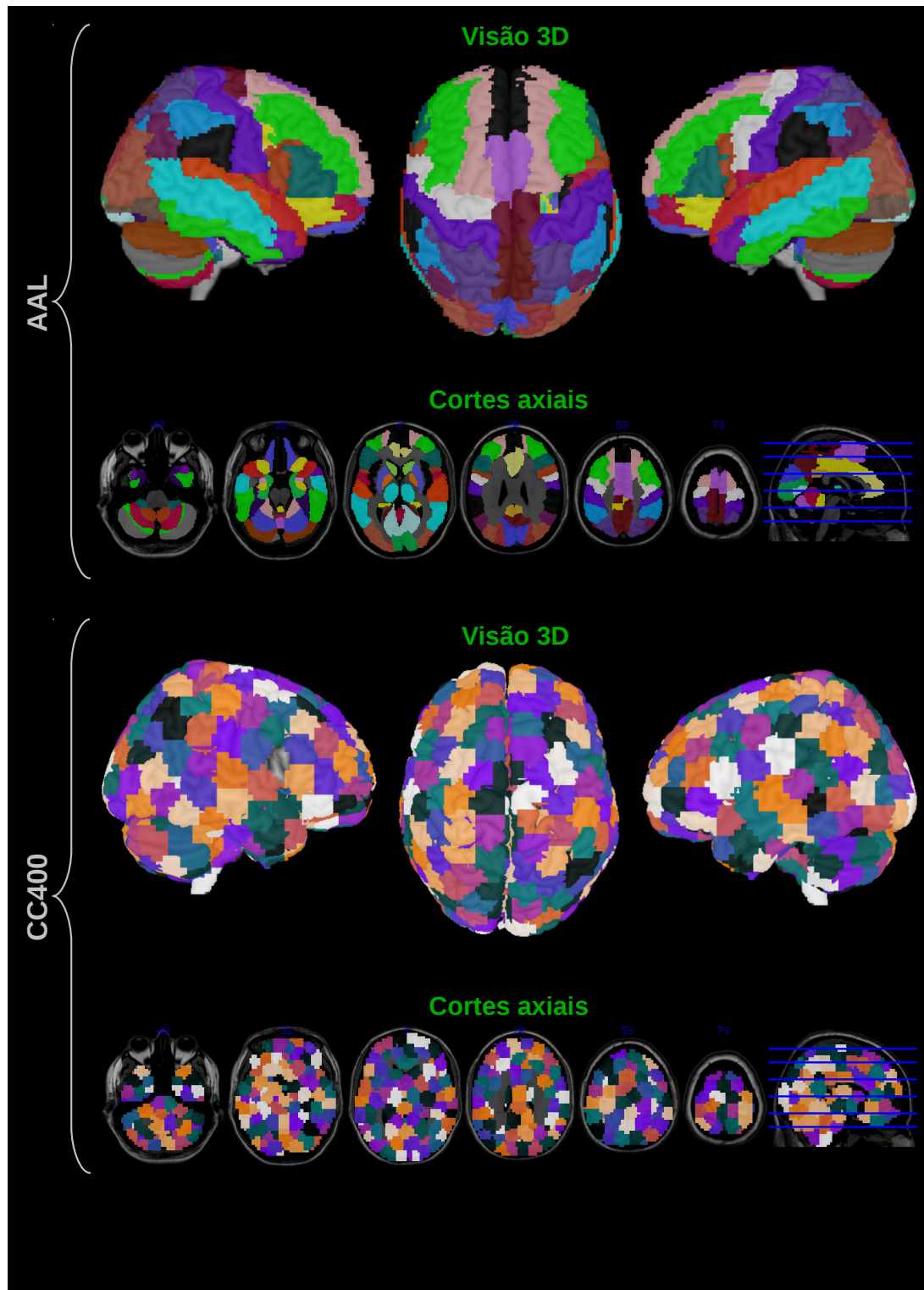


Figura 3.8: Visualização 3D e cortes com orientação axial dos atlas CC400 e AAL.

a média de toda a região poderia inundar o sinal importante deste pequeno nú-

mero de *voxels* com o dos *voxels* restantes não ativados. Não há uma solução amplamente aceita para este problema, o que sugere que a análise por ROIs deve se concentrar em regiões funcionalmente coerentes ou relativamente pequenas se possível [PMN11].

Capítulo 4

Clusterização

Uma das habilidades mais básicas dos seres vivos envolve o agrupamento de objetos similares para produzir uma classificação. A ideia de classificar itens semelhantes em categorias vem desde o homem primitivo, que deve ter sido capaz de perceber que muitos objetos individuais compartilhavam certas propriedades, tais como serem comestíveis ou venenosos, ou ainda ferozes e assim por diante. De fato, a classificação tem um papel importante e indispensável na longa história do desenvolvimento humano.

A fim de aprender um novo objeto ou compreender um fenômeno novo, as pessoas sempre tentam identificar características descritivas e compará-las com as de objetos ou fenômenos conhecidos, com base em sua similaridade ou dissimilaridade - generalizada como proximidade - de acordo com algumas determinadas normas ou regras. Por exemplo, de acordo com a taxonomia biológica, os animais podem ser classificados em categorias de reino, filo, classe, ordem, família, etc. Com base em informações sobre classificação, é possível inferir propriedades de um objeto específico com base na categoria a que pertence, por exemplo, saber que um avião se locomove rapidamente sem necessariamente vê-lo em funcionamento [ELL11, XW09].

A habilidade humana de classificar se estende a todo processo onde há troca de informações entre os indivíduos. Atualmente, devido a grande capacidade de capturar e armazenar informações, existe a necessidade de se trabalhar com diferentes tipos de dados provenientes de toda categoria de medições e observações. Dados podem descrever as características de uma espécie viva, as propriedades de um fenômeno natural, resumir os resultados de um experimento científico e registrar a dinâmica de um sistema de máquinas em funcionamento. Mais importante ainda, os dados fornecem uma base para uma análise mais aprofundada,

o raciocínio, as decisões e para a compreensão de todos os tipos de objetos e fenômenos.

Um dos processos mais importante em atividades de análise de dados é classificar ou agrupar em um conjunto de categorias ou *clusters*. Os objetos de dados que são classificados no mesmo grupo devem apresentar propriedades semelhantes com base em alguns critérios. Em muitas aplicações, no entanto, os pesquisadores podem estar procurando uma classificação que, além de fornecer uma síntese útil dos dados, também serve para um propósito mais fundamental. Medicina é um bom exemplo. Para entender e tratar a doença, esta necessita ser classificada, e, em geral, a classificação terá dois objetivos principais. O primeiro será de predição - separando doenças que requerem diferentes tratamentos. O segundo será o de fornecer uma base para a investigação sobre as causas de diferentes tipos de doenças [ELL11].

Quando falamos de sistemas de classificação, basicamente eles serão ou supervisionados ou não supervisionado. Na classificação não-supervisionada, também chamada de agrupamento ou clusterização (do inglês *clustering*) ou análise exploratória de dados, apenas dados não rotulados estão disponíveis. O objetivo da clusterização é separar um conjunto finito sem rótulo em um conjunto finito e discreto de “naturais”, em vez de fornecer uma caracterização precisa de amostras não observadas geradas a partir da mesma distribuição de probabilidades.

Logo, é evidente que uma razão direta para a existência da clusterização não supervisionada vem da necessidade de explorar as naturezas desconhecidas dos dados que são analisados com pouca ou nenhuma informação prévia. Considere, por exemplo, o diagnóstico de doenças e tratamento clínico. Para um determinado tipo de doença, podem existir vários subtipos desconhecidos que apresentam aparências morfológicas semelhantes ao responder diferentemente ao mesmo tratamento. Neste contexto, a análise de clusterização, com dados de expressão gênica, proporciona um método promissor para descobrir os subtipos e, assim, determinar as terapias apropriadas.

Às vezes, o processo de rotulação manual de dados pode tornar-se extremamente caro e demorado, o que também faz da clusterização uma boa escolha, considerando a grande economia de tempo e de recursos materiais e humanos. Além disso, a análise de clusterização fornece uma representação comprimida dos dados e é útil para análises em grande escala. Podemos resumir os objetivos da análise de clusterização nos quatro aspectos principais a seguir [XW09]:

1. Desenvolvimento de uma classificação;

2. Investigação de esquemas conceituais úteis para agrupar entidades;
3. Geração de hipóteses por meio da exploração de dados;
4. O teste de hipóteses ou a tentativa de determinar se os tipos definidos por meio de outros procedimentos são de fato presentes em um conjunto de dados.

Devido ao aumento da carga dos dados, a rotulagem manual humana tornou-se extremamente difícil e cara. Assim, a rotulagem automática tornou-se um passo indispensável para a mineração de dados. A clusterização pode ser útil em várias tarefas de aprendizado de máquina e mineração de dados, incluindo segmentação de imagens, recuperação de informação, reconhecimento de padrões, classificação de padrões, análise de redes e assim por diante. Esta pode ser vista como uma tarefa exploratória ou como uma etapa de pré-processamento. Se o objetivo é explorar e revelar os padrões ocultos nos dados, o agrupamento se torna uma tarefa exploratória autônoma por si só. No entanto, se os agrupamentos gerados vão ser utilizados para facilitar a outra tarefa de mineração de dados ou a aprendizagem de máquina, o agrupamento será uma etapa de pré-processamento [AR14].

Formalmente, clusterização é o processo de dividir um conjunto de dados em subconjuntos de tal forma que todos os membros de um determinado subconjunto sejam similares de acordo com alguma medida de distância [BDW08].

As duas abordagens mais populares para o clusterização são a aglomerativa e a com base em protótipo. Na clusterização aglomerativa, cada dado é inicialmente colocado em seu *cluster*, então, os grupos que são mais similares de acordo com alguma medida são mesclados de forma iterativa, até que o número desejado de grupos seja atingido, ou algum critério sobre a probabilidade dos dados ou distorção é excedido.

Já na clusterização com base em protótipo, o número final de grupos é geralmente definido *a priori*. Cada protótipo é inicializado para alguma posição e os dados são atribuídos aos protótipos de acordo com a semelhança entre eles (a atribuição pode ser exclusiva ou fracionada, dependendo do algoritmo). Os protótipos são, em seguida, ajustados para minimizar a distorção dos dados. O processo de ajuste e atribuição é repetido até que não haja mudanças significativas no resultado [BDW08].

Ao utilizar o aprendizado supervisionado em problemas de classificação, presume-se que os usuários saibam as classes alvo e tenham exemplos rotulado de cada

classe de destino. Em muitos problemas interessantes, esta é uma situação irreal [BDW08].

4.1 Discussão sobre o termo *cluster*

Os algoritmos de agrupamento particionam conjuntos de dados (padrões, entidades, observações, unidades, etc.) em um certo número de *clusters* (agrupamentos, grupos, subconjuntos, ou categorias). No entanto, não há uma definição precisa nem universalmente aceita do termo *cluster*. Uma definição formal de agrupamento não é apenas difícil, mas também pode até ser inadequada [ELL11].

Apesar desta dificuldade, diversas definições estão disponíveis, como “um *cluster* é um conjunto de entidades que são semelhantes, e entidades de diferentes grupos não são semelhantes” ou “um agregado de pontos no espaço de tal modo que a distância entre quaisquer dois pontos no agrupamento é menor que a distância entre qualquer ponto no agrupamento e qualquer ponto que não esteja no mesmo agrupamento.”, ou ainda, em relação a densidade, “agrupamentos podem ser descritos como regiões contínuas do espaço de características contendo uma densidade relativamente elevada de pontos, separada das outras regiões por regiões que contêm uma densidade de pontos relativamente baixa” [XW09].

Nessas definições, um *cluster* é descrito em termos de homogeneidade interna e separação externa, ou seja, objetos de dados no mesmo *cluster* devem ser semelhantes entre si, enquanto que objetos de dados em diferentes grupos devem ser diferentes um do outro. Tanto a semelhança quanto a dessemelhança devem ser definidas de forma clara e significativa [XW09].

Uma ideia intuitiva do porquê desta dificuldade em definir o que é um *cluster* pode ser observada na Figura 4.1. Nela, o agrupamento em um nível grosseiro produz quatro grandes grupos (painel (a)), enquanto um agrupamento mais fino conduz a nove grupos (painel (b)). Independente desta subjetividade, poderia ser argumentado que existe uma estrutura “natural” de agrupamentos nos dados representados, o que nos levou a deduzir a existência de quatro grandes grupos (quadrados, retângulos, círculos, e cruzamento).

Entretanto, em uma situação real, o pesquisador geralmente desconhece *a priori* a estrutura dos dados que deseja clusterizar. Ainda, caso a quantidade de dados seja suficientemente elevada ou possua mais que três dimensões, sequer é possível descobrir a estrutura pela representação gráfica dos dados. A análise de clusterização será a ferramenta utilizada para este fim. Neste cenário, um

problema importante é que o pesquisador pode convenientemente ignorar a possibilidade de que a classificação produzida por uma análise de clusterização é um artefato do método e que está impondo uma estrutura em seus dados em vez de descobrir algo sobre a estrutura real [ELL11].

4.2 Métodos para clusterização

Dentre as classes de algoritmos de agrupamento mais estudadas está a clusterização particional. Estes algoritmos têm sido muito utilizados em uma ampla gama de aplicações, principalmente devido à sua simplicidade e facilidade de aplicação em relação a outros algoritmos de agrupamento. Algoritmos de agrupamento particionais visam descobrir os agrupamentos presentes nos dados por meio da otimização de uma função objetivo específica e, de forma iterativa, melhorar a qualidade das partições. Esses algoritmos geralmente requerem certos parâmetros do usuário para escolher os pontos protótipos (que representam cada *cluster*). Por esta razão, eles também são chamados de algoritmos de agrupamento com base em protótipo [AR14]. Para algoritmos como o k -médias e o Fuzzy c -médias (FCM), o protótipo de um *cluster* é o centroide [Wu12].

Iremos prover algumas descrições matemáticas simples para a clusterização particional rígida (do inglês *hard partitional clustering*) [XW09]. Dado um conjunto inicial de entrada $\mathcal{X} = \{\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_j, \dots, \mathbf{x}_N\}$, tal que $\mathbf{x}_i \in \mathbb{R}^d$ para $i = 1, \dots, N$ representa um objeto que deseja-se clusterizar, algoritmos de clusterização particionais procuram atingir uma k -partição $\mathcal{C} = \{C_1, \dots, C_k\}$ ($k \leq N$) de \mathcal{X} tal que:

1. $C_i \neq \emptyset, i = 1, \dots, k$;
2. $\bigcup_{i=1}^k C_i = \mathcal{X}$;
3. $C_i \cap C_j = \emptyset$, para $i, j = 1, \dots, k$ e $i \neq j$.

Nesta seção, apresentamos dois dos algoritmos de clusterização particionais mais populares, o k -médias e o k -medoides. Adicionalmente, apresentamos também a clusterização espectral para clusterizar grafos.

4.2.1 k -médias

O k -médias (do inglês *k-means*) [Mac67] é um dos mais conhecidos e populares algoritmos de agrupamento. O k -médias procura uma partição ideal dos dados,

minimizando o critério de soma do erro quadrático com um procedimento de otimização iterativo.

Iremos apresentar o procedimento básico de agrupamento do k -médias. Primeiro, é necessário escolher k centroides iniciais, onde k representa o número de *clusters* desejado, um parâmetro especificado pelo usuário. Então, cada ponto é atribuído ao centroide (protótipo) mais próximo, sendo que cada conjunto de pontos atribuídos a um centroide representa um *cluster*. O centroide (média dos vetores) de cada *cluster* é atualizado com base nos pontos atribuídos para o *cluster*. Repetimos os passos de atualização até que nenhum ponto mude de *cluster*, ou equivalente, até que os centroides permaneçam os mesmos da repetição anterior [TSK06].

Agora, definiremos de maneira formal o algoritmo básico do k -médias. Seja k o número de *clusters* definido *a priori*, seja $\mathcal{M} \in \mathbb{R}^{u \times k}$ a matriz protótipo que possui $\mathbf{m}_1, \dots, \mathbf{m}_k$ como colunas, tal que \mathbf{m}_i para $i = 1, \dots, k$, representa um centroide, denotamos $d(x, y)$ como a dissimilaridade entre x e y , então [XW09]:

1: Inicialize uma k -partição aleatoriamente ou com base em informações prévias. Calcule a matriz protótipo $\mathcal{M} = \{\mathbf{m}_1, \dots, \mathbf{m}_k\}$ de acordo com a Equação 4.2.

2: Atribua cada item do conjunto de dados para o agrupamento mais próximo C_l , ou seja,

$$\mathbf{x}_j \in C_l, \text{ se } d(\mathbf{x}_j, \mathbf{m}_l) < d(\mathbf{x}_j, \mathbf{m}_i) \quad (4.1)$$

para $j = 1, \dots, N, i \neq l, \text{ e } i = 1, \dots, k$

3: Seja N_i o número de itens do *cluster* i , para $i = 1, \dots, k$. Recalcule a matriz protótipo \mathcal{M} com base na partição atual,

$$\mathbf{m}_i = \frac{1}{N_i} \sum_{\mathbf{x}_j \in C_i} \mathbf{x}_j \quad (4.2)$$

4: Repita os passos 2 e 3 até não haver alterações nos agrupamentos.

Um problema do k -médias é que o procedimento de forma iterativa não garante a convergência para um ótimo global. Assim, como o k -médias pode convergir para um ótimo local, diferentes pontos iniciais geralmente levam a diferentes centroides de convergência, o que torna importante começar com uma partição

inicial razoável para obter bons resultados. No entanto, em teoria, não existem métodos eficientes e universais para a determinação de tais partições iniciais, embora tenham sido propostas soluções como o k -médias genético (GKM, do inglês *genetic k-means*). Uma abordagem mais simples para tentar produzir resultados melhores consiste em executar o k -médias um número de vezes (por exemplo, 100) e selecionar a que produz o melhor particionamento [TSK06].

Além disso, o k -médias é sensível a presença de *outliers* (valores extremos) e ruído. O cálculo das médias considera todos os objetos de dados no cluster, incluindo os valores discrepantes. Mesmo se um objeto estiver muito longe dos centroides do *cluster*, ainda é atribuído a um *cluster* e usado para calcular a representação protótipo, o que distorce a forma dos *clusters* [XW09].

4.2.2 k -medoides

A estrutura simples do algoritmo k -médias facilita o processo de modificar e construir algoritmos mais eficientes em cima dela. O k -medoides, que propõe a escolha de diferentes protótipos representativos para os *clusters*, é uma das variações do k -médias [AR14].

Na clusterização k -médias, descrita na subseção 4.2.1, cada *cluster* é representado por um centroide, que é a média de seus vetores. Já no método k -medoides, cada *cluster* é representado por um objeto selecionado entre os elementos de \mathcal{X} , o qual nomeamos de medoide.

Seja k o número de *clusters* definido *a priori*, seja $\mathcal{F} \in \mathbb{Z}^{u \times k}$ a matriz protótipo que possui $\mathbf{z}_1, \dots, \mathbf{z}_k$ como colunas, tal que \mathbf{z}_i para $i = 1, \dots, k$, representa um medoide. O medoide de cada *cluster* C_i é o objeto que minimiza [RRdlIRS06].

$$\arg \min \sum_{\mathbf{y} \in C_i} d(\mathbf{y}, \mathbf{z}_i) \quad (4.3)$$

A representação dos *clusters* utilizando medoides possui duas vantagens em relação ao método k -médias. Primeiro, pode ser utilizado com conjuntos de dados definidos no domínio discreto ou contínuo, enquanto o k -médias é adequado apenas para o caso contínuo, uma vez que, no caso discreto, a média de um subconjunto do conjunto de objetos nem sempre é um ponto pertencente ao domínio. Segundo, o k -medoides tende a ser menos sensível a *outliers* quando comparado ao algoritmo k -médias. No entanto, é preciso observar que a média de um *cluster* possui significado estatístico, o que não necessariamente é o caso do medoide. Além disso, os algoritmos para estimar o melhor conjunto de medoides são com-

putacionalmente mais custosos se comparados ao k -médias.

O k -medoides é um algoritmo de agrupamento mais robusto na presença de *outliers* em relação ao k -médias. Semelhante ao k -médias, o objetivo do k -medoides é encontrar um agrupamento que minimiza uma função objetivo pré-definida. O algoritmo básico de agrupamento k -medoides pode ser assim definido [AR14]:

- 1: Selecione aleatoriamente, entre os objetos, k medoides para representar os *clusters*.
- 2: Atribua cada ponto para o *cluster* que possua o medoide mais próximo.
- 3: Recalcule a posição dos k medoides.
- 4: Repita os passos 2 e 3 até que os medoides não se alterem.

4.2.3 Clusterização espectral

Os algoritmos de clusterização espectral, que têm visto aumentar sua popularidade ao longo dos últimos anos, principalmente após os trabalhos de Shi e Malik (2000) [SM00] e Ng *et al.* (2002) [NJW02], compreendem uma forma simples de se clusterizar grafos, são algoritmos fáceis de implementar e de rápida execução [VM03].

Ao contrário de algoritmos de agrupamento tradicionais que sempre resultam em aglomerados com forma geométrica convexa (como o k -médias), a clusterização espectral pode resolver problemas em situações mais complexas, como de espirais entrelaçadas ou outras formas não-lineares arbitrárias, pois não faz suposições sobre a forma dos *clusters* [AR14].

Dado um grafo $\mathbf{G} = (\mathbf{P}, \mathbf{E})$, onde $\mathbf{P} = \{p_1, \dots, p_N\}$ representa o conjunto de vértices e \mathbf{E} o conjunto de arestas, o problema de clusterização aplicado a grafos pode ser definido como particionar \mathbf{G} nos conjuntos disjuntos C_1, \dots, C_k otimizando alguma função objetiva. Neste trabalho, assumimos que \mathbf{G} é ponderado e não-direcionado, isto é, cada aresta entre dois vértices p_l e p_q (para $l, q = 1, \dots, N$) possui um peso $h_{lq} \geq 0$.

Assim, definimos $\mathbf{H} = (h_{l,q})_{l,q=1,\dots,N}$ como a matriz de adjacência de \mathbf{G} , tal que, se $h_{l,q} = 0$, então os vértices p_l e p_q não estão conectados e, como \mathbf{G} é não-direcionado, logo $h_{l,q} = h_{q,l}$.

Para resolver o problema de clusterização de grafos, o algoritmo utilizado neste trabalho é o de clusterização espectral não normalizado, que pode ser descrito como [Lux07]:

Entrada: o número de *clusters* k e a matriz de similaridades \mathbf{H} , onde $\mathbf{H} = (h_{l,q})_{l,q=1,\dots,N}$ (no âmbito deste trabalho, seja p o p-valor da correlação de Spearman entre duas áreas de interesse do cérebro, considere $h_{l,q} = 1 - p$).

- 1: Calcule a matriz diagonal \mathbf{D} , que contém d_1, \dots, d_N na diagonal ($d_l = \sum_{q=1}^N h_{l,q}$).
- 2: Calcule a matriz Laplaciana $\mathbf{Q} = \mathbf{D} - \mathbf{H}$.
- 3: Calcule os k autovetores $\mathbf{w}_1, \dots, \mathbf{w}_k$ associados aos k maiores autovalores de \mathbf{Q} .
- 4: Seja $\mathbf{W} \in \mathbb{R}^{N \times k}$ a matriz que contém os vetores $\mathbf{w}_1, \dots, \mathbf{w}_k$ como colunas.
- 5: Para $l = 1, \dots, N$, seja $\mathbf{y}_l \in \mathbb{R}^k$ o vetor relativo a l -ésima linha de \mathbf{W} .
- 6: Clusterize os pontos $(\mathbf{y}_l)_{l=1,\dots,N}$ com o algoritmo PAM nos *clusters* C_1, \dots, C_k [GLB⁺04, Sar06].

Saída: *Clusters* C_1, \dots, C_k .

O número de *clusters* k é definido usando-se o método *slope* [FTP14], descrito na seção 4.3.

4.3 Estimação do número de *clusters*

Algoritmos como o k -médias e o k -medoides assumem que o número de *clusters* k seja conhecido *a priori* pelo usuário, o que, infelizmente, geralmente não é verdade na prática. Assim como na situação de inicialização dos protótipos, também não existem métodos universais para a seleção de k . Portanto, a identificação de k *a priori* torna-se um tema muito importante na solidez da clusterização [XW09].

Apesar de existirem várias propostas para determinar o número de agrupamentos, este é ainda um problema não resolvido e difícil devido à ausência de uma definição clara do que é um *cluster* e, especialmente, porque é dependente tanto do método de agrupamento adotado quanto das características da distribuição de dados, como forma e escala por exemplo. Quando o número é desconhecido, um procedimento comum é comparar algum critério de clusterização como função para definir o número de *clusters* e, se houver uma separação abrupta nos valores de critério, isto sugere um número “natural” de *clusters* [DHS00].

A estatística da silhueta, introduzida na sequência, pode ser utilizada para estimar k . Ela verifica se um item específico foi atribuído a um *cluster* apropriado. Em outras palavras, é uma medida do quão bem os itens foram clusterizados pelo procedimento de clusterização adotado [Rou87].

Seja $\mathcal{X} = \{x_1, \dots, x_N\}$ os itens de uma amostra clusterizada em $\mathcal{C} = \{C_1, \dots, C_k\}$ *clusters* conforme algum critério. Observe que $\mathcal{X} = \bigcup_{q=1}^k C_q$. Definimos

$$d(x, C) = \frac{1}{\#C} \sum_{y \in C} d(x, y) \quad (4.4)$$

como a dissimilaridade média entre x e todos os itens do *cluster* $C \subset \mathcal{X}$ (ou $C \in \mathcal{C}$), onde $\#C$ representa o número de itens de C . Denote $D_q \in \mathcal{C}$ como o *cluster* ao qual x_q foi atribuído pelo algoritmo de clusterização, e $E_q \in \mathcal{C}$ como qualquer outro *cluster* diferente de D_q para todo $q = 1, \dots, N$. As grandezas envolvidas na estatística da silhueta são dadas por

$$a_q = d(x_q, D_q) \quad \text{e} \quad b_q = \min_{E_q \neq D_q} d(x_q, E_q), \quad \text{para} \quad q = 1, \dots, N,$$

onde a_q representa a similaridade intra-*cluster* e b_q é a menor dissimilaridade inter-*cluster* para a amostra x_q . Uma proposta para medir o quão bem o item x_q foi clusterizado é dada pela estatística da silhueta como segue [Rou87]:

$$s_q = \begin{cases} \frac{b_q - a_q}{\max\{b_q, a_q\}}, & \text{se } \#D_q > 1, \\ 0, & \text{se } \#D_q = 1 \end{cases} \quad (4.5)$$

A escolha da estatística da silhueta é interessante devido às suas interpretações. Podemos perceber que, caso $s_q \approx 1$, então a dissimilaridade intra-*cluster* é expressivamente menor que a dissimilaridade inter-*cluster* ($a_q \ll b_q$). Em outras palavras, o item x_q foi atribuído a um *cluster* apropriado, já que a segunda melhor escolha não está tão próxima quanto a atual. Se $s_q \approx 0$, então $a_q \approx b_q$, e portanto não está claro se x_q deveria ser atribuído ao *cluster* atual ou a segunda melhor escolha, já que x_q está igualmente distante de ambos os *clusters*. Se $s_q \approx -1$, então ($a_q \gg b_q$) e portanto, x_q posiciona-se consideravelmente mais próximo a segunda melhor escolha que a atual. Assim, é mais natural atribuir x_q a segunda melhor escolha ao invés da atual, já que x_q foi classificado incorretamente. Assim sendo, s_q serve como medida do quão bem o item x_q foi classificado.

Originalmente, a escolha de k dava-se de forma que $\hat{k} = \arg \max s(k), k \in \{2, \dots, N\}$ [Rou87], entretanto, este procedimento pode tornar-se falho por exem-

plô caso exista um *cluster* dominante, pois $s(k)$ pode assumir valores elevados mesmo quando o número de *clusters* é pequeno.

Para superar este problema, a estatística *slope*, um método não-paramétrico e orientado aos dados, uma extensão do método silhueta, pode ser aplicada para estimar o número k de agrupamentos.

A estatística *slope* pode ser definida como:

$$\hat{k} = \arg \max - [s(k+1) - s(k)] s(k)^v, \quad k \in \{2, \dots, N-1\} \quad (4.6)$$

onde v representa um parâmetro inteiro que define uma maior importância para $[s(k+1) - s(k)]$ quando possui valores pequenos e maior valor peso para o valor absoluto da silhueta quando possuir valores maiores.

A estatística *slope* é livre de distribuições de referência, tem uma interpretação intuitiva e não requer cálculos intensivos. Além disso, pode lidar com situações em que o conjunto de dados não é uma mistura de distribuições Gaussianas, quando existe um grupo dominante e correlação na base de dados, e quando o número de parâmetros é grande [FTP14].

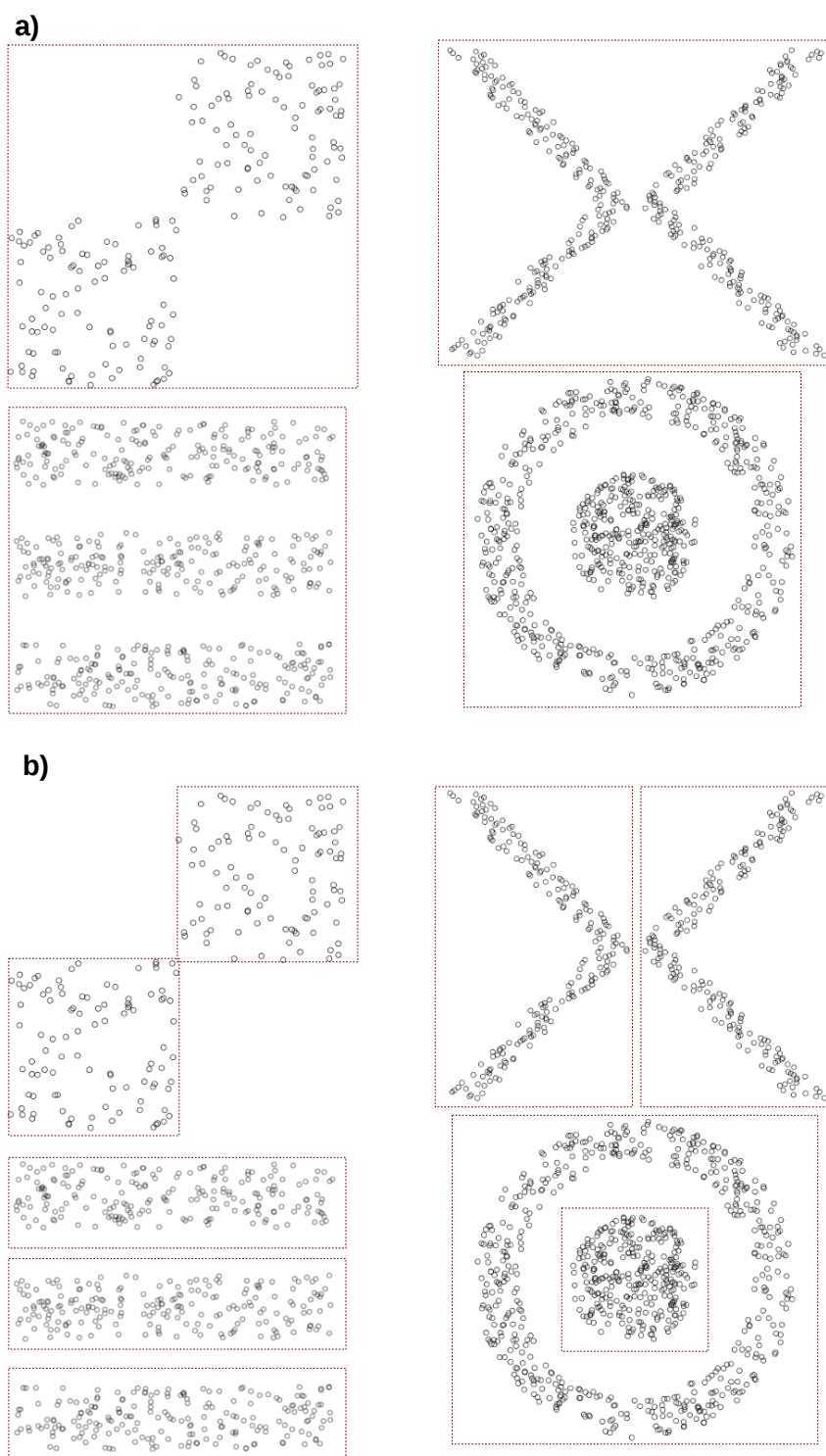


Figura 4.1: *Ilustração da subjetividade da análise de agrupamentos. Cada ponto circular representa um elemento do conjunto de dados que se deseja clusterizar. O retângulo tracejado representa a região de um cluster. No painel (a), os critérios de clusterização levaram a identificação de quatro clusters. Por outro lado, no painel (b) uma divisão mais criteriosa identificou nove agrupamentos.*

Capítulo 5

Análise da variabilidade da estrutura do cluster (ANOCVA)

Neste capítulo, apresentamos os conceitos referentes aplicação da estatística da silhueta na diferenciação de estruturas clusterizadas. Enunciaremos o ANOCVA (*ANalysis Of Cluster structure VAriability*), um teste estatístico não-paramétrico para comparar *clusters* com base na estatística da silhueta [FTPS14].

5.1 Enunciado do problema

Considere r populações T_1, T_2, \dots, T_r , onde cada população T_j ($j = 1, \dots, r$) é composta por n_j amostras, e cada amostra contém N itens clusterizados de alguma maneira. Gostaríamos de verificar se a estrutura dos *clusters* das r populações é igual e, caso não sejam, identificar quais itens se clusterizam de maneira diferente entre as populações [FTPS14]. Para identificar a igualdade na estrutura dos *clusters*, utilizamos a estatística da silhueta, brevemente descrita na Seção 4.3.

Em neurociência computacional, cada população T_j representa um grupo de indivíduos com determinadas características semelhantes as quais deseja-se estudar, como ser controle ou portador de determinada desordem, ser do gênero masculino ou feminino e assim por diante. Cada amostra representa um exame de ressonância magnética funcional de um indivíduo e os itens da amostra descrevem a série temporal de cada *voxel* ou região de interesse (ROI).

5.1.1 Extensão da estatística da silhueta

Na seção anterior, introduzimos notações quando possuímos N itens em uma amostra. Nesta seção, estenderemos a abordagem para muitas populações e muitas amostras em cada população.

Sejam T_1, T_2, \dots, T_r , r tipos de populações, tal que a j -ésima população é composta por n_j amostras, para $j = 1, \dots, r$. A matriz $\mathbf{X}_{i,j} = (\mathbf{x}_{i,j,1}, \dots, \mathbf{x}_{i,j,N})$, onde cada item $\mathbf{x}_{i,j,l}$ ($l = 1, \dots, N$) é um vetor, representa os itens da i -ésima amostra da j -ésima população.

Inicialmente, definimos a matriz de dissimilaridades entre itens de cada matriz $\mathbf{X}_{i,j}$ como sendo

$$\mathbf{A}_{i,j} = \{d(\mathbf{x}_{i,j,q}, \mathbf{x}_{i,j,q'})\}, \quad \text{para } i = 1, \dots, n_j, \quad j = 1, \dots, r$$

Observe que cada matriz $\mathbf{A}_{i,j}$ é simétrica com os elementos da diagonal sendo iguais a zero. Além disso, definimos as seguintes matrizes médias de dissimilaridades

$$\bar{\mathbf{A}}_j = \frac{1}{n_j} \sum_{i=1}^{n_j} \mathbf{A}_{i,j} = \frac{1}{n_j} \sum_{i=1}^{n_j} \{d(x_{i,j,q}, x_{i,j,q'})\} \quad \text{e} \quad \bar{\bar{\mathbf{A}}} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^r n_j \bar{\mathbf{A}}_j$$

onde $n = \sum_{j=1}^r n_j$ e $q, q' = 1, \dots, N$. As matrizes $(N \times N)$ $\bar{\mathbf{A}}_1, \dots, \bar{\mathbf{A}}_k$ e $\bar{\bar{\mathbf{A}}}$ são as únicas medidas necessárias para prosseguir com nossa proposta. Agora, baseado na matriz de dissimilaridades $\bar{\bar{\mathbf{A}}}$ nós podemos utilizar um algoritmo de clusterização para procurar os rótulos $\mathbf{I}_{\bar{\bar{\mathbf{A}}}}$ e então, calcular as seguintes estatísticas da silhueta

$$s_q^{(\bar{\bar{\mathbf{A}}}, \mathbf{I}_{\bar{\bar{\mathbf{A}}}})} \quad \text{e} \quad s_q^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{I}_{\bar{\bar{\mathbf{A}}}})}, \quad \text{para } q = 1, \dots, N.$$

O primeiro representa a estatística da silhueta baseada na matriz de dissimilaridades $\bar{\bar{\mathbf{A}}}$, e o último, a estatística da silhueta baseada na matriz de dissimilaridades $\bar{\mathbf{A}}_j$, ambas obtidas utilizando os rótulos de clusterização computados pela matriz $\bar{\bar{\mathbf{A}}}$. Nós esperamos que, caso os itens de todas as populações T_1, T_2, \dots, T_r sejam igualmente clusterizados, então as medidas $s_q^{(\bar{\bar{\mathbf{A}}}, \mathbf{I}_{\bar{\bar{\mathbf{A}}}})}$ e $s_q^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{I}_{\bar{\bar{\mathbf{A}}}})}$ terão valor próximo para todo $j = 1, \dots, r$ e $q = 1, \dots, N$.

Testes estatísticos

Sejam os seguintes vetores

$$\mathbf{S} = \left(s_1^{(\bar{\mathbf{A}}, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})}, \dots, s_N^{(\bar{\mathbf{A}}, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})} \right)^T \quad \text{e} \quad \mathbf{S}_j = \left(s_1^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})}, \dots, s_N^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})} \right)^T$$

e seja $\mathbf{l}_j (j = 1, \dots, r)$ o vetor de *labels* para a j -ésima população tal que $\mathbf{l}_j = \mathbf{l}_{\mathbf{A}_j^+}$ é a matriz média de dissimilaridades para a j -ésima população, definida na sequência. Nós consideramos que $(\mathbf{x}_{1,j,q}, \dots, \mathbf{x}_{n_j,j,q})$ são independentes e identicamente distribuídas para todas as combinações de $j = 1, \dots, r$ e $q = 1, \dots, N$. Assuma que $\mathbb{E}(d(\mathbf{x}_{1,j,q}, \mathbf{x}_{1,j,q'})) < \infty$ para todo j, q e q' , então definimos $\{\mathbf{A}_j^+\}_{q,q'} = \mathbb{E}(d(\mathbf{x}_{1,j,q}, \mathbf{x}_{1,j,q'}))$. Perceba que, pela lei dos grandes números, a matriz média de dissimilaridades $\bar{\mathbf{A}}_j$ converge quase que certamente para \mathbf{A}_j^+ .

Agora, definimos $\delta S_j = \mathbf{S} - \mathbf{S}_j$. Desejamos testar se todas as r populações estão clusterizadas da mesma maneira, ou seja, se apresentam a mesma estrutura de clusterização, então:

$H_0: \mathbb{E}(\delta S_1) = \dots = \mathbb{E}(\delta S_r) = 0$, isto é, “Dado o algoritmo de clusterização, os dados de T_1, T_2, \dots, T_r são igualmente clusterizados.”

contra

H_1 : “Pelo menos um item se clusteriza de maneira diferente.”

onde a estatística é definida por $\Delta S = \sum_{j=1}^k \delta S_j^T \delta S_j$ para construir nosso teste estatístico. Observe que, sob a hipótese nula, todos os N itens se clusterizam igualmente entre as r populações. Portanto $s_q^{(\bar{\mathbf{A}}, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})}$ para todo $q = 1, \dots, N$, logo, é esperado que se obtenha um ΔS pequeno, pois ΔS com valor elevado sugere a rejeição da hipótese nula.

Agora, suponha que a hipótese nula seja rejeitada no teste anterior. Então, seria natural identificar quais itens estão clusterizados de forma diferente entre populações.

Então, vamos definir $\delta s_q^{(\bar{\mathbf{A}}, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})} = \frac{1}{k} \sum_{j=1}^r s_q^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{l}_{\bar{\mathbf{A}}})}$

Para responder esta pergunta, analisamos cada s_q com o seguinte teste estatístico:

$H_0: \mathbb{E}(\delta s_q) = 0$, isto é, “dado um algoritmo de clusterização, o q -ésimo item ($q = 1, \dots, N$) se clusteriza igualmente entre as populações”.

H_1 : “O q -ésimo item ($q = 1, \dots, N$) não se clusteriza igualmente entre as populações”.

Utilizaremos a estatística $\Delta s_q = \delta s_q^2$, para $q = 1, \dots, N$ para construir a

estatística do teste. Novamente, sob a hipótese nula, é esperado um valor pequeno para Δs_q enquanto que um valor elevado para Δs_q sugere a rejeição da hipótese nula.

Não é trivial obter a distribuição exata ou assintótica de ΔS e Δs_q , portanto, nós utilizamos um procedimento computacional baseado em *bootstrap* [ET94] para construir a distribuição empírica sob a hipótese nula.

O algoritmo *bootstrap* para ambos os testes é:

- 1: Reamostramos, com reposição, n_j amostras do conjunto completo de dados $\{T_1, T_2, \dots, T_r\}$, para construir as amostras T_j^* ($j = 1, \dots, k$) para o *bootstrap*.
- 2: Calcule $\bar{\mathbf{A}}_j^*$, $\bar{\mathbf{A}}^*$, $s_q^{(\bar{\mathbf{A}}, \mathbf{1}_{\bar{\mathbf{A}}})^*}$ e $s_q^{(\bar{\mathbf{A}}_j, \mathbf{1}_{\bar{\mathbf{A}}})^*}$, Para $q = 1, \dots, N$, com base nas amostras T_j^* .
- 3: Calcule $\hat{\Delta S}^*$ e $\hat{\Delta s}_q^*$.
- 4: Repita os passos 1 a 3 até obter o número desejado de réplicas *bootstrap*.
- 5: Os p-valores dos testes *bootstrap*, baseados nas estatísticas ΔS e Δs_q são as frações das réplicas de $\hat{\Delta S}^*$ e $\hat{\Delta s}_q^*$ no conjunto *bootstrap* T_j^* , respectivamente, que são maiores ou iguais às estatísticas baseadas no conjunto de dados original.

Capítulo 6

Aplicação em dados reais

Este capítulo apresenta a modelagem dos experimentos, resultados e discussão da análise da estrutura de clusterização da base de dados ABIDE pelo teste estatístico ANOCVA.

6.1 Dados

O conjunto de dados utilizado nas simulações deste trabalho é o *Autism Brain Imaging Data Exchange* (ABIDE), que encontra-se disponível publicamente no website (http://fcon_1000.projects.nitrc.org/indi/abide/).

A iniciativa reúne exames de ressonância magnética estrutural e de ressonância magnética funcional de 1.112 indivíduos, sendo 539 diagnosticados com alguma desordem do espectro autista e 573 controles. São também fornecidas informações de fenótipo como idade, gênero, mão utilizada para escrita, quociente de inteligência (QI), etc. O banco de dados contém amostras fornecidas por 17 diferentes laboratórios distribuídos pelo mundo e compreende um importante recurso para o estudos das bases de ASD, considerada a dificuldade para se conseguir tal quantidade de informações.

Foram removidos todas as amostras ASD que não possuíam especificação de subtipo (57 indivíduos) e as amostras da classe PDD-NOS (do inglês *pervasive developmental disorder not otherwise specified*) devido ao baixo número (42 indivíduos) de indivíduos.

6.2 Construção das redes de conectividade

Para a obtenção dos dados utilizados para construir a rede de conectividade funcional a partir das séries temporais, primeiramente as imagens foram pré-processadas conforme o *pipeline* Athena (ver Seções 3.1 e 3.1.3). Depois, foram extraídas as séries temporais conforme um atlas que define regiões. Em nosso trabalho, o atlas CC400, disponibilizado pelo Athena e construído por um procedimento de clusterização espectral [CJH⁺12] foi utilizado para definir 351 regiões de interesse (ROIs, do inglês *region of-interest*) (ver Seção 3.5).

As amostras com série temporal menor que 100 após o *scrubbing* [PBS⁺12] foram então eliminadas. Restaram assim 896 amostras (média da idade \pm desvio padrão; quantidade de amostras do gênero masculino), 82 Asperger (19,97 \pm 11,36; 70), 285 Autismo (17,53 \pm 7,12; 255) e 529 Controles (17,47 \pm 7,81; 430). Estes foram os dados utilizados para os passos seguintes.

Na sequência, a rede de conectividade funcional foi construídas por correlação de Spearman para cada amostra (indivíduo). A conectividade entre duas regiões é representada pelo p -valor da correlação de Spearman. Após a construção das redes, foi efetuada a remoção do efeito de sítio pelo *ber*, um procedimento de dois estágios com duas regressões lineares em sucessão [Gio14]. Então, os valores de conectividade foram convertidos para z -valor. Com o objetivo de diminuir a incidência de resultados devido a artefatos, foram identificadas todas as ROIs que possuíam interseção com a região cerebral do Ventrículo. Essas ROIs foram removidas da rede de conectividade funcional de todas as amostras e restaram 316 regiões em cada rede.

6.3 Estimação do número de *clusters*

Como um dos parâmetros do algoritmo de clusterização espectral utilizado requer que seja definido o número de clusters, a estatística *slope* [FTP14], representada na Figura 6.1, foi utilizada com este propósito. O número de *clusters* é aquele com maior valor de *slope* e portanto a base de dados foi dividida em cinco *clusters*. A Figura 6.2 contém a visualização 3D dos cinco *clusters*.

6.4 Análise ANOCVA

As redes de conectividade funcional construídas a partir dos dados fMRI, conforme explicado anteriormente, foram então submetidas ao teste estatístico

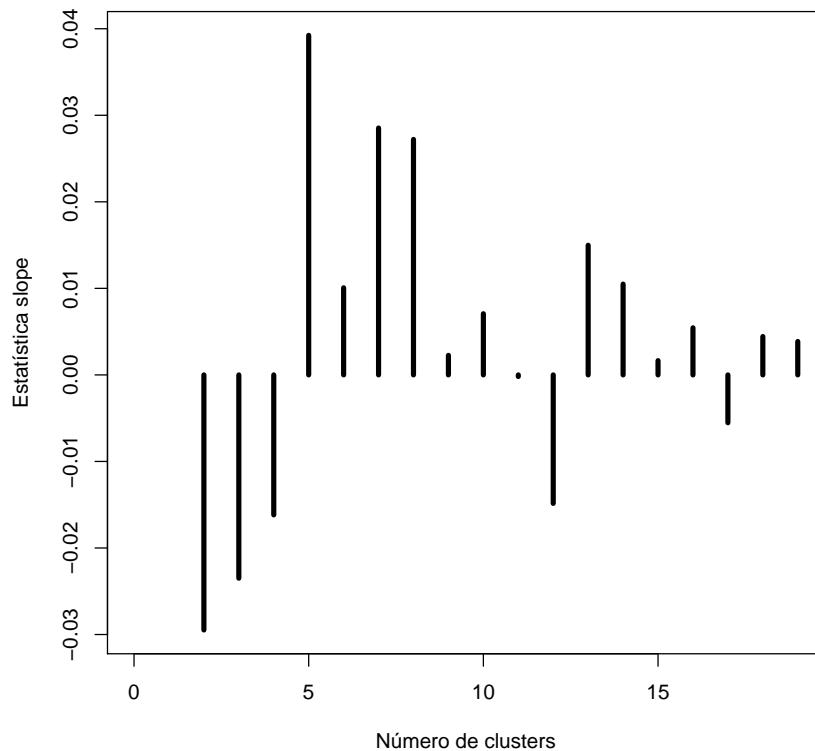


Figura 6.1: Definição do número de clusters pela estatística slope. O número de clusters estimado é aquele com maior valor de slope e portanto é cinco para a base de dados do trabalho.



Figura 6.2: Representação 3D dos clusters encontrados por clusterização espectral na base de dados ABIDE. Cada cor representa um dos cinco clusters. “E” representa o lado esquerdo do cérebro e “D” o lado direito.

ANOCVA. Os passos de uma análise pelo teste, que são aqueles descritos no Capítulo 5 estão representados na Figura 6.3.

A análise ANOCVA foi efetuada na base de dados com e sem o *scrubbing* (ver Seção 3.1.3). Para reforçar a validade das ROIs identificadas como significativas

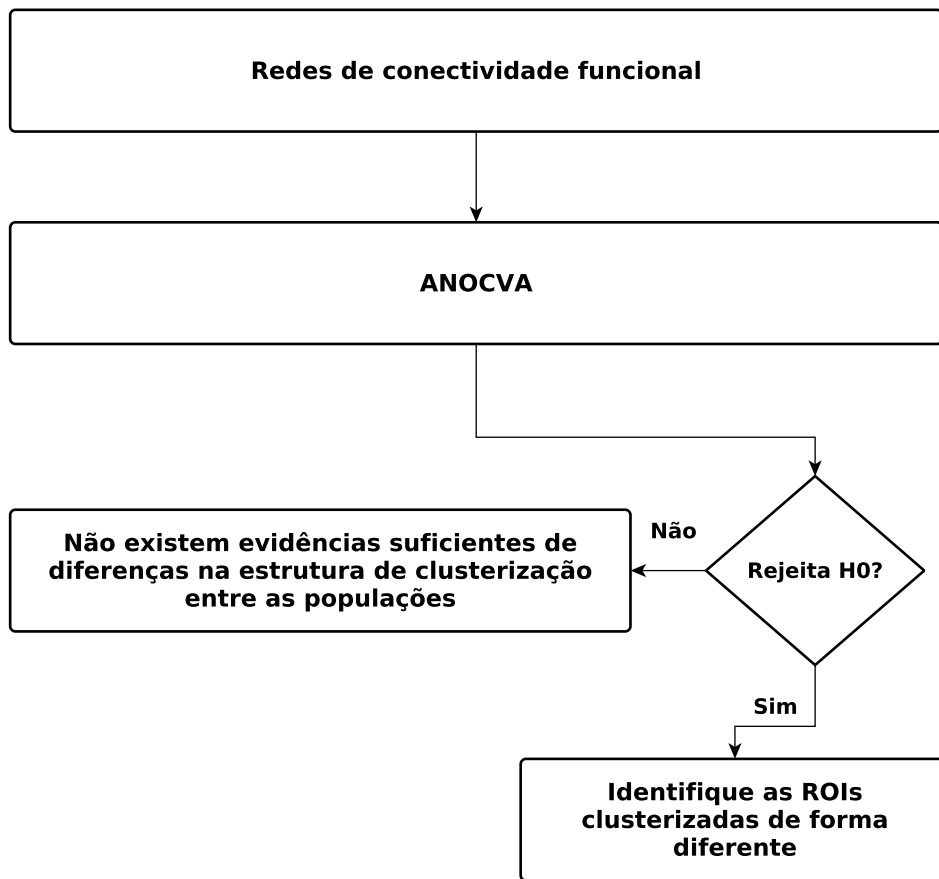


Figura 6.3: *Passos da análise ANOCVA.*

pele ANOCVA (que estão clusterizadas de maneira diferente entre populações), todas as ROIs que tiveram uma variação maior que cinco pontos percentuais entre os dois casos tiveram seus resultados desconsiderados, conforme esquema representado na Figura 6.4.

Na análise ANOCVA, o primeiro passo envolve testar as combinações dos grupos da base de dados. Assim, foram realizados quatro testes:

1. Controle *versus* Autismo *versus* Asperger;
2. Controle *versus* Autismo;
3. Controle *versus* Asperger;
4. Autismo *versus* Asperger.

Caso o primeiro teste rejeite H_0 , então existem evidências suficientes para testar dois a dois os grupos para verificar diferenças de estruturas de clusterização entre eles. Realizados os testes, foram obtidos os p -valores (já corrigidos para

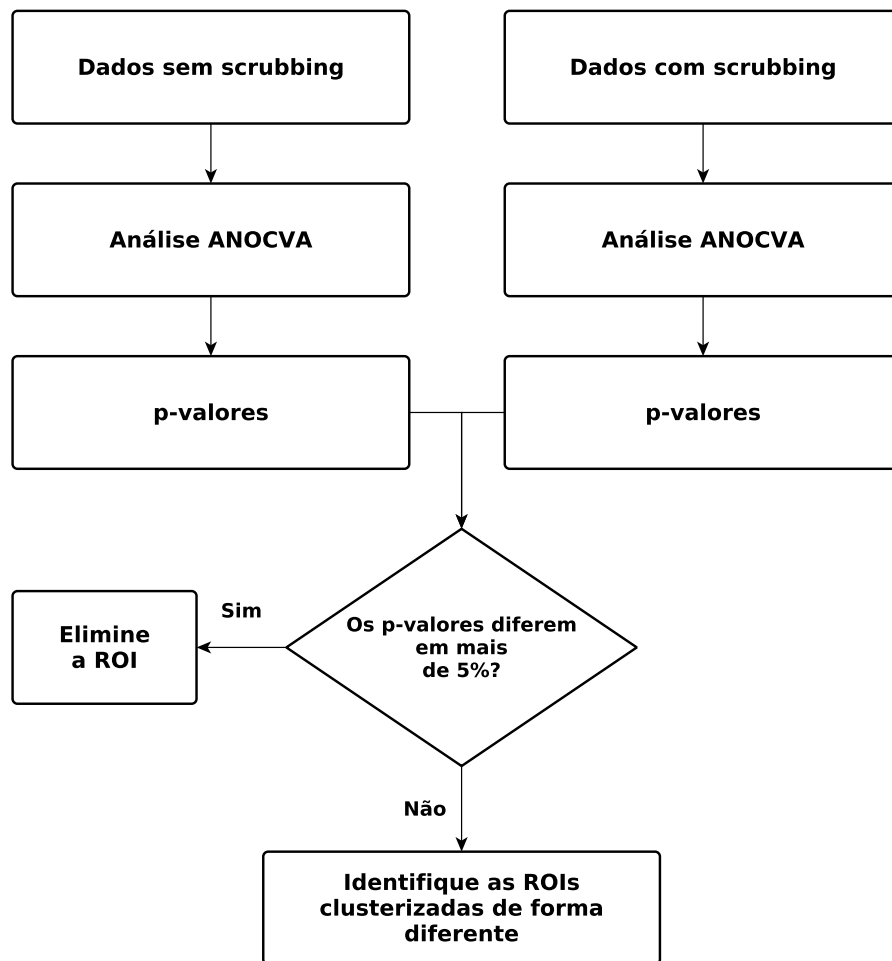


Figura 6.4: Comparação entre os dados com e sem scrubbing para desconsiderar resultados muito diferentes. O ANOCVA é executado em paralelo tanto para os dados com scrubbing quanto para os dados sem scrubbing. Após, os p -valores para os itens clusterizados (no nosso caso, ROIS) são comparados entre os dois casos e, se existir uma variação acima de cinco pontos percentuais, o resultado da ROI é ignorado.

testes múltiplos por Bonferroni) representados na Tabela 6.1.

Ao testar nas ROIs com o objetivo de descobrir quais estavam diferencialmente clusterizadas, o teste Autismo *versus* Asperger não retornou nenhuma ROI. O Controle *versus* Asperger retornou quatro ROIs significativas e o Controle *versus* Autismo, de nosso maior interesse, 44 ROIs significativas. Foi considerando um limiar para o p -valor de 0,05 após correção por Bonferroni. Os resultados para o teste Controle *versus* Autismo são apresentados e discutidos na sequência.

Tabela 6.1: *Testes estatísticos para comparar grupos do ABIDE. Foi efetuada correção para testes múltiplos por Bonferroni.*

Teste comparativo	<i>p</i> -valor
Controle <i>versus</i> Autismo <i>versus</i> Asperger	< 0,0001
Controle <i>versus</i> Autismo	< 0,0001
Controle <i>versus</i> Asperger	0,0109
Autismo <i>versus</i> Asperger	0,0199

6.4.1 Resultados e discussão

A ideia que motiva análises das interações entre as regiões do cérebro é a de que os processos cognitivos resultam de tais interações. Isto é, processos como operações de memória ou de atenção não resultam do funcionamento de áreas cerebrais individuais, mas da colaboração entre diversas áreas. Dada uma rede de conectividade funcional e métodos de clusterização adequados (como de clusterização espectral) é possível observar como as regiões cerebrais se agrupam para permitir a execução de tarefas cognitivas e, com o emprego do ANOCVA, verificar com significância estatística as regiões diferencialmente agrupadas entre populações.

As Figuras 6.5 e 6.6 apresentam os resultados das ROIs com significância estatística para o teste Controle *versus* Autismo. Dentre as regiões identificadas pelo teste, inicialmente iremos discutir três delas: o cerebelo, o giro pré-central e o giro frontal médio. O fato destas regiões serem parte do resultado de nossa análise é particularmente interessante devido a função desempenhada por elas.

O cerebelo foi relativamente bem caracterizado tanto anatomicamente quanto fisiologicamente, assim, muitos investigadores têm elaborado teorias para explicar a sua função. Entretanto, apesar de tais teorias terem convergido de maneira significativa, ainda não se pode dizer que um consenso foi alcançado [MP02].

De modo geral, as funções mais evidentes do cerebelo envolvem auxiliar a avaliação, a estabilização e o controle de movimento e postura. Nesse aspecto, a maioria dos pontos de vista atuais consideram que o órgão opera como um controlador adaptativo que busca melhorar a estabilidade do sistema motor, o que envolve o controle de sincronia, suavidade e precisão com que um movimento é executado [MP02].

Além das funções motoras, o cerebelo também é essencial para a adaptação a perturbações ambientais. Em um experimento que envolvia o uso de óculos que distorciam a visão, pacientes com lesões no cerebelo tiveram desempenho inferior a pacientes normais (controles). Isso atribui ao cerebelo uma função de

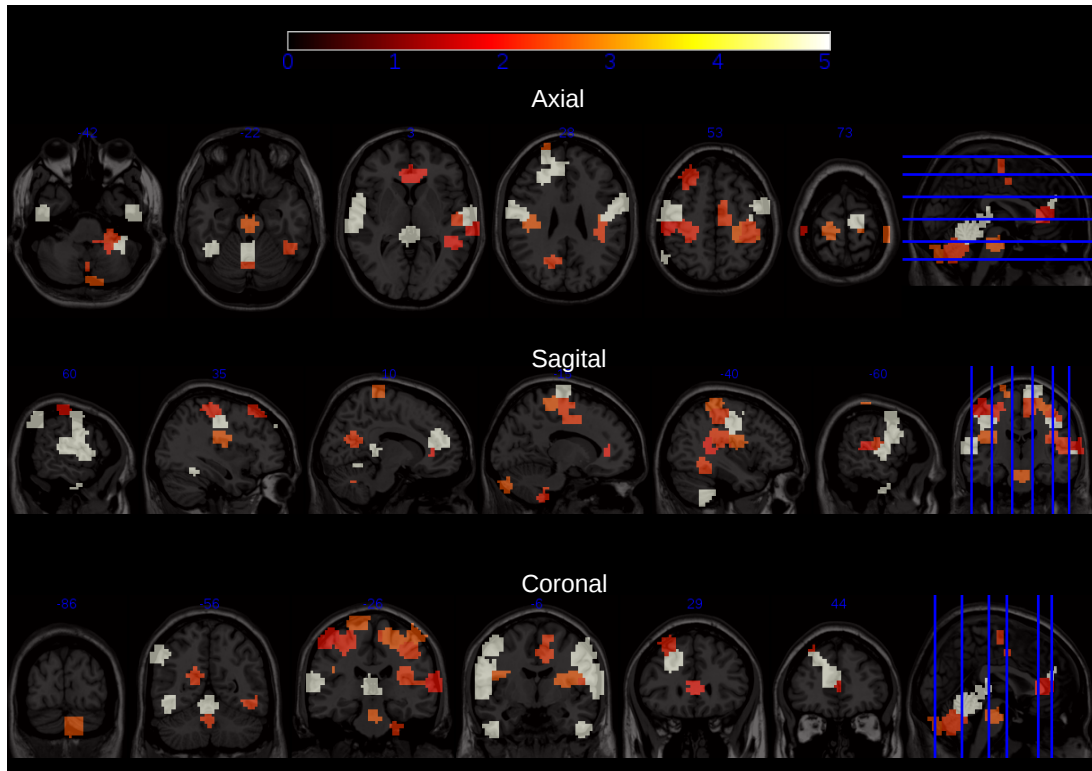


Figura 6.5: Cortes das ROIs significativas no teste Controle versus Autismo. A tabela de cores no topo da imagem representa a escala z-valor para as ROIs.

aprendizagem, particularmente no que diz respeito ao comportamento que visa antecipar ações (aprendizagem preditiva) [KB09].

Trabalhos recentes em imagens médicas têm relatado, entre indivíduos com alguma ASD e controles, diferenças tanto estruturais [Sto14, DSMG+11] quanto funcionais [MPS+09, PLF+13] para o cerebelo. Além disso, por meio de estudos *postmortem*, foi observado a existência de anormalidades no crescimento celular na região do cerebelo [CP05].

Outra região identificada foi o giro pré-central - também chamado de córtex motor primário - que localiza-se na face posterior do lobo frontal. Sua função é integrar os sinais de função motora a partir de diferentes regiões do cérebro, como o cerebelo e o globo pálido (do latim *Globus pallidus*). Ele serve como o córtex motor primário para o planejamento e execução de movimentos voluntários [SS10].

O giro frontal médio atua, junto ao córtex motor primário, no controle e inibição de movimentos voluntários, além de funções na personalidade. Conforme discutido no Capítulo 2, indivíduos com ASD apresentam deficiências motoras, incluindo deficit de controle motor básico e redução da estabilidade da postura.

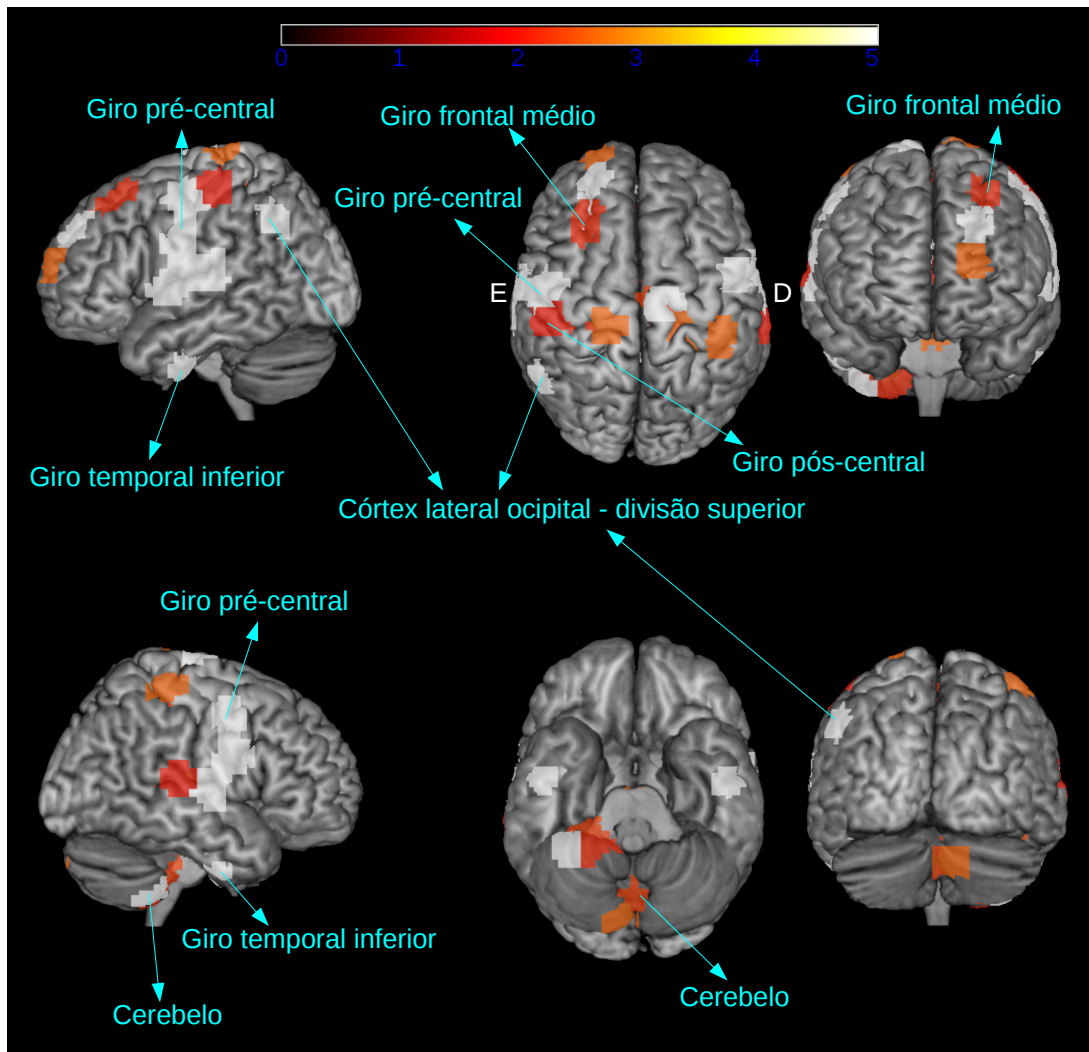


Figura 6.6: Visualização 3D das ROIs significativas no teste Controle versus Autismo. A tabela de cores no topo da imagem representa a escala z-valor para as ROIs. “E” representa o lado esquerdo do cérebro e “D” o lado direito.

Portanto, a identificação entre indivíduos ASD e controles de ROIs com estrutura de agrupamento diferenciada no cerebelo, no giro pré-central e no giro frontal médio sugere que a rede de controle de movimento e postura pode ser desregulada em indivíduos com ASD.

Dentre as demais regiões identificadas, o giro pós-central possui relação com o processamento de informações do tato e senso de posição. Evidências empíricas sugerem que problemas de processamento sensorial são uma das características fundamentais das desordens do espectro autista. Uma das evidências é que indivíduos com autismo e síndrome de Asperger são tidos como hipersensíveis ao toque [BTC⁺06]. Como o giro pré-central - onde localiza-se o córtex somatosensorial

primário - possui relação direta com a função de tato, dor, senso de posição e senso de fronteira entre as partes do corpo [SS10] a identificação desta região em nossos experimentos reforça sua relação com as desordens do espectro autista.

Finalmente, foram identificadas diferenças nas regiões do giro temporal inferior e do córtex lateral occipital - divisão superior. Ambas as regiões possuem relação com o processamento visual. Enquanto o córtex lateral occipital parece desempenhar um papel central no reconhecimento visual de objetos, o giro temporal pertence aos níveis mais elevados de processamento do fluxo visual, inclusive, uma das funções atribuídas à região é de estar envolvida na percepção de faces. Existem evidências que apóiam que o reconhecimento de faces é atípico em indivíduos com ASD [MN01, SCE09]. Indivíduos com alguma ASD demonstram pouco interesse em compreender faces [NJRT⁺14]. Em um experimento, quando comparados controles *versus* ASD, ambos os grupos com idade e QI pareados, um grupo de adultos com ASD mostrou possuir falta de memória de reconhecimento de faces, mas memória normal de reconhecimento para edifícios e folhas [BFS⁺02].

Os resultados obtidos podem ser separados em três grupos de funções cognitivas: motora, sensorial e visual. Todas as regiões possuem funções que desempenham papel importante na caracterização das desordens do espectro autista. Apesar de diversos estudos já terem relatado a relação entre essas regiões e ASD, a maioria dos trabalhos utiliza uma base de dados pequena (da ordem de poucas dezenas), pouco representativa, enquanto este trabalho selecionou 896 indivíduos da base de dados ABIDE.

Em relação ao uso de métodos de clusterização para verificar como as regiões se agrupam para desempenhar funções cognitivas, um trabalho importante foi o desempenhado por Nebel *et al.* (2014), que estudou o padrão de conectividade funcional entre o córtex motor primário e as demais regiões do cérebro em crianças com ASD [NJM⁺14]. Apesar de utilizar técnicas diferentes, o estudo também encontrou diferenças na estrutura de organização do córtex motor primário entre indivíduos ASD e controles. Este trabalho contribuiu para o conhecimento das bases de ASD ao relacionar, em uma única análise, regiões com estrutura organizacional diferenciada e função motora (cerebelo, córtex motor primário e giro frontal médio), sensorial (giro pós-central) e visual (giro temporal inferior e córtex lateral occipital). Todas as regiões identificadas possuem funções relacionadas às desordens do espectro autista.

Capítulo 7

Conclusão

Há um grande interesse da comunidade científica pela aplicação da técnica fMRI no estudo das mais diversas áreas, como visão, funções motoras, da linguagem e memória em pacientes normais e portadores de desordens. Como estes processos cognitivos não resultam do funcionamento de áreas cerebrais individuais, mas sim da colaboração de diversas áreas, é interessante ter ferramentas e técnicas que permitam testar como estas áreas interagem. O ANOCVA, ao permitir identificar regiões agrupadas de maneira diferente entre classes de indivíduos, é uma dessas ferramentas.

Este trabalho desenvolveu ferramentas computacionais para a análise da estrutura de clusterização em dados fMRI pelo teste estatístico ANOCVA. Os resultados dos experimentos realizados com a base de dados ABIDE mostraram haver diferenças na estrutura de clusterização de regiões com função motora (cerebelo, córtex motor primário e giro frontal médio), sensorial (giro pós-central) e visual (giro temporal inferior e córtex lateral occipital) quando comparados indivíduos das classes Controle e Autismo. Todas as regiões identificadas possuem funções relacionadas às desordens do espectro autista.

Apesar do ANOCVA ter se mostrado um importante recurso ao possibilitar diferenciar, com significância estatística, estruturas de clusterização em dados de fMRI, também possui suas limitações. Uma delas é que as comparações são realizadas apenas entre grupos, ou seja, caso seja de interesse do pesquisador analisar a estrutura da clusterização de redes para pessoas levando em consideração a idade (variável contínua), isto seria possível somente se a idade fosse discretizada em faixas (por exemplo, em duas classes: 18 anos ou menos, mais que 18 anos).

Um outro exemplo de limitação poderia ser o caso em que há interesse no estudo de atividades cognitivas específicas, por exemplo, visual ou motora. Neste

caso, geralmente o exame fMRI conterà faixas em estado de repouso e faixas em que determinada atividade é realizada pelo indivíduo. O ANOCVA não permite analisar esta evolução da rede entre os dois estados, além disso, sabemos que mesmo para amostras apenas em estado de repouso, a rede de conectividade varia em função do tempo. Novamente, caso as séries temporais sejam separadas em duas classes - estado de repouso e em atividade - o ANOCVA permitiria verificar a existência de diferenças na estrutura de clusterização entre os dois grupos, porém, não seria possível verificar como essas diferenças evoluem entre os dois estados.

Ainda, há também a limitação de não ser possível incluir variáveis preditoras na análise. Sabemos que o sinal fMRI capturado é função não apenas da classe que o indivíduo pertence (desenvolvimento típico ou alguma desordem específica), mas também da idade, nível de conhecimento, sexo, etc. Atualmente, estes efeitos precisam ser verificados antes da análise ANOCVA.

Nos próximos passos, os programas desenvolvidos neste trabalho serão publicados em um pacote R (The R Project for Statistical Computing - <http://www.r-project.org/>) que será livremente disponibilizado para acesso da comunidade e será publicado. Os resultados obtidos pela análise da estrutura de clusterização em ASD na base de dados ABIDE também serão publicados.

Referências Bibliográficas

- [AMF⁺02] E. H. Aylward, N. J. Minshew, K. Field, B. F. Sparks e N. Singh. Effects of age on brain volume and head circumference in autism. *Neurology*, 59:175 – 183, 2002. 9
- [AR14] Charu C. Aggarwal e Chandan K. Reddy, editors. *Data Clustering: Algorithms and Applications*. CRC Press, 2014. 30, 32, 34, 35
- [ASN08] David G. Amaral, Cynthia Mills Schumann e Christine Wu Nordahl. Neuroanatomy of autism. *Elsevier*, 31:137 – 145, 2008. 5, 9
- [Ass00] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. *DSM-IV-TR (4 ed.)*, 2000. 4
- [Ass10] American Psychiatric Association. Diagnostic criteria for 299.00 autistic disorder. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV (4 ed.)*, 2010. 4
- [Ass13] A.P. Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition: DSM 5*. 2013. 7, 8
- [BABM⁺04] M. K. Belmonte, G. Allen, A. Beckel-Mitchener, L. M. Boulanger, R. A. Carper e S. J. Webb. Autism and abnormal development of brain connectivity. *The Journal of Neuroscience*, 24:9228 – 9231, 2004. 3
- [BB06] D. S. Bassett e E. Bullmore. Small-world brain networks. *Neuroscientist*, 12:512 – 523, 2006. 2
- [BBBR02] JP Brock, CC Brown, J Boucher e G Rippon. The temporal binding deficit hypothesis of autism. *Development and Psychopathology*, 14:209 – 224, 2002. Publisher: Cambridge University Press. 9
- [BDW08] Sugato Basu, Ian Davidson e Kiri Wagstaff. *Constrained Clustering: Advances in Algorithms, Theory, and Applications*. Chapman & Hall/CRC, 1 edição, 2008. 30, 31
- [BFS⁺02] R.J.R Blair, U Frith, N Smith, F Abell e L Cipolotti. Fractionation of visual memory: agency detection and its impairment in autism. *Neuropsychologia*, 40(1):108 – 118, 2002. 52

- [BS09] E. Bullmore e O. Sporns. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Reviews Neuroscience*, 10:186 – 198, 2009. 2, 3
- [BTC⁺06] Sarah-Jayne Blakemore, Teresa Tavassoli, Susana Calò, Richard M. Thomas, Caroline Catmur, Uta Frith e Patrick Haggard. Tactile sensitivity in asperger syndrome. *Brain and Cognition*, 61(1):5 – 13, 2006. Special Issue: The Cognitive Neuroscience of Asperger Syndrome. 51
- [Bux09] R.B. Buxton. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques*. Cambridge University Press, 2009. 12
- [CJH11] Rong Chen, Yun Jiao e Edward H. Herskovits. Structural mri in ausitm spectrum disorder. *Pediatric Research*, 69:63R – 68R, 2011. 2, 4, 5
- [CJH⁺12] R. Cameron Craddock, G. Andrew James, Paul E. Holtzheimer, Xiaoping P. Hu e Helen S. Mayberg. A whole brain fMRI atlas generated via spatially constrained spectral clustering. *Human brain mapping*, 33(8):1914–1928, Agosto 2012. 25, 45
- [CK06] Roberto Cabeza e Alan Kingstone, editors. *Handbook of functional neuroimaging of cognition*. Cognitive neuroscience. Cambridge, Mass. MIT Press, 2006. 14, 17
- [CKD⁺01] E. Courchesne, C. M. Karns, H. R. Davis, R. Ziccardi, R. A. Carper, Z. D. Tigue, Chisum H. J., P. Moses, K Pierce, C. Lord, A. J. Lincoln, S. Pizzo, L. Schreibman, R. H. Haas, N. A. Akshoomoff e R. Y. Courchesne. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an mri study. *Neurology*, 57:245 – 254, 2001. 9
- [CP05] Eric Courchesne e Karen Pierce. Why the frontal cortex in autism might be talking only to itself: local over-connectivity but long-distance disconnection. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(2):225 – 230, 2005. Cognitive neuroscience. 9, 50
- [CPS⁺07] Eric Courchesne, Karen Pierce, Cynthia M. Schumann, Elizabeth Redcay, Joseph A. Buckwalter, Daniel P. Kennedy e John Morgan. Mapping early brain development in autism. *Neuron*, 56(2):399 – 413, 2007. 3
- [DHS00] Richard O. Duda, Peter E. Hart e David G. Stork. *Pattern Classification (2Nd Edition)*. Wiley-Interscience, 2000. 36

- [DSMG⁺11] Manish Dalwani, Joseph T. Sakai, Susan K. Mikulich-Gilbertson, Jody Tanabe, Kristen Raymond, Shannon K. McWilliams, Laetitia L. Thompson, Marie T. Banich e Thomas J. Crowley. Reduced cortical gray matter volume in male adolescents with substance and conduct problems. *Drug and Alcohol Dependence*, 118(2–3):295 – 305, 2011. 50
- [ELL11] Brian S. Everitt, Sabine Landau e Morven Leese. *Cluster Analysis*. Wiley Publishing, 5th edição, 2011. 28, 29, 31, 32
- [ESD⁺12] Christine Ecker, John Suckling, C. Sean Deoni, V. Michael Lombardo, Ed T. Bullmore, Simon Baron-Cohen, Marco Catani, Peter Jezzard, Anna Barnes, J. Bailey anthony, Steven C. Williams e Declan G. M. Murphy. Brain anatomy and its relationship to behavior in adults with autism spectrum disorder: A multicenter magnetic resonance imaging study. *Arch Psychiatric*, 69:195 – 209, 2012. 2, 4, 9
- [ET94] B. Efron e R. J. Tibishirani. *An introduction to the bootstrap*. Chapman & Hall/CRC, 1994. 43
- [FEB⁺11] Vladimir Fonov, Alan C. Evans, Kelly Botteron, C. Robert Almlí, Robert C. McKinstry e D. Louis Collins. Unbiased average age-appropriate atlases for pediatric studies. *NeuroImage*, 54(1):313 – 327, 2011. 24
- [FEM⁺09] VS Fonov, AC Evans, RC McKinstry, CR Almlí e DL Collins. Unbiased nonlinear average age-appropriate brain templates from birth to adulthood. *Neuroimage*, 47, 2009. 24
- [FKRea10] KA Fournier, CI Kimberg, KJ Radonovich e et al. Increased static and dynamic postural control in children with autism spectrum disorders. *Gait & posture*, 32(1):6–9, 2010. 5
- [FM10] S.H. Faro e F.B. Mohamed. *BOLD fMRI: A Guide to Functional Imaging for Neuroscientists*. SpringerLink : Bücher. Springer, 2010. 12, 15, 16, 17, 18
- [Fre07] C M Freitag. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Molecular Psychiatry*, 12:2222, 2007. 6
- [FTP14] André Fujita, Daniel Y. Takahashi e Alexandre G. Patriota. A non-parametric method to estimate the number of clusters. *Comput. Stat. Data Anal.*, 73:27–39, Maio 2014. 36, 38, 45
- [FTPS14] André Fujita, Daniel Y. Takahashi, Alexandre G. Patriota e João R. Sato. A non-parametric statistical test to compare clusters

- with applications in functional magnetic resonance imaging data. *Statistics in Medicine*, 33(28):4949–4962, 2014. 2, 40
- [GEFGS11] Elen Gjevick, Sigmund Eldevik, Torill Fjæran-Granum e Eili Spohnheim. Kiddie-sads reveals high rates of dsm-iv disorders in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 41(6):761–769, 2011. 7
- [Gio14] Marco Giordan. A two-stage procedure for the removal of batch effects in microarray studies. *Statistics in Biosciences*, 6(1):73–84, 2014. 45
- [GL07a] Daniel H Geschwind e Pat Levitt. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(1):103 – 111, 2007. Development. 3
- [GL07b] Daniel H Geschwind e Pat Levitt. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(1):103 – 111, 2007. Development. 3
- [GLB+04] Robert D. Gibbons, Nicole A. Lazar, Dulal K. Bhaumik, Stanley L. Sclove, Hua Yun Chen, Keith R. Thulborn, John A. Sweeney, Kwan Hur e Dave Patterson. Estimation and classification of fmri hemodynamic response patterns. *NeuroImage*, 22(2):804 – 814, 2004. 36
- [GMK04] Mohammad Ghaziuddin e Kimberly Mountain-Kimchi. Defining the intellectual profile of asperger syndrome: Comparison with high-functioning autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 34(3):279–284, 2004. 5
- [HDM+09] B. Hallahan, E. M. Daly, G. McAlonan, E. Loth, F. Toal, F. O’Brien, D. Robertson, S. Hales, C. Murphy, K. C. Murphy e D. G. Murphy. Brain morphometry volume in autistic spectrum disorder: magnetic resonance imaging study of adults. *Psychol Med*, 39:337 – 346, 2009. 9
- [HPG+05] H. C. Hazlett, M. Poe, G. Gerig, R. G. Smith, J. Provenzale, A. Ross, J. Gilmore e J. Piven. Magnetic resonance imaging and head circumference study of brain size in autism: birth through age 2 years. *Arch Gen Psychiatry*, 62:1366 – 1376, 2005. 9
- [JCK+07] Marcel Adam Just, Vladimir L. Cherkassky, Timothy A. Keller, Rajesh K. Kana e Nancy J. Minshew. Functional and anatomical cortical underconnectivity in autism: Evidence from an fmri study of an executive function task and corpus callosum morphometry. *Cerebral Cortex*, página 961, 2007. 9

- [JGN⁺06] EvaM. Jansiewicz, MelissaC. Goldberg, CraigJ. Newschaffer, MarthaB. Denckla, Rebecca Landa e StewartH. Mostofsky. Motor signs distinguish children with high functioning autism and asperger's syndrome from controls. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 36(5):613–621, 2006. 4
- [JKM⁺12] Marcel Adam Just, Timothy A. Keller, Vicente L. Malave, Rajesh K. Kana e Sashank Varma. Autism as a neural systems disorder: A theory of frontal-posterior underconnectivity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(4):1292 – 1313, 2012. 4, 6, 9
- [KB09] L.F. Koziol e D.E. Budding. *Subcortical Structures and Cognition: Implications for Neuropsychological Assessment*. Behavioral Science. Springer, 2009. 50
- [KKK⁺08] H Koshino, Rajesh K. Kana, Timothy A. Keller, Vladimir L. Cherkassky, Nancy J. Minshew, Adam Just, Hideya Koshino, Rajesh K. Kana, Timothy A. Keller, L. Cherkassky, Nancy J. Minshew e Marcel Adam Just. fmri investigation of working memory for faces in autism: Visual coding and underconnectivity with frontal areas. *Cerebral Cortex*, página 300, 2008. 9
- [Laz08] N. Lazar. *The Statistical Analysis of Functional MRI Data*. Statistics for Biology and Health. Springer, 2008. 16, 17, 18
- [LBBT14] Aline Lefebvre, Anita Beggiato, Thomas Bourgeron e Roberto Toro. Neuroanatomical diversity of corpus callosum and brain volume in the autism brain imaging data exchange (abide) project. *bioRxiv*, 2014. 4, 9
- [LM01] Catherine Lord e James P. McGee. *Educating Children with Autism*. National Academy Press, 2001. 4, 5, 6
- [LMS09] S. E. Levy, D. S. Mandell e R. T. Schultz. Autism. *Lancet*, páginas 1627 – 1638, 2009. 4
- [Lux07] U. von Luxburg. A tutorial on spectral clustering. *Statistics and Computing*, 17:395 – 416, 08 2007. 2, 36
- [Mac67] J. B. MacQueen. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. Em L. M. Le Cam e J. Neyman, editors, *Proc. of the fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*, volume 1, páginas 281–297. University of California Press, 1967. 32
- [MCC⁺09] Grainne McAlonan, C. Cheung, V. Cheung, N. Wong, J. Suckling e S. E. Chua. Differential effects on white-matter systems in high-functioning autism and asperger's syndrome. *Psychological Medicine*, 39(11):1885–1893, 2009. 5

- [MDK⁺02] G. M. McAlonan, E. Daly, V. Kumari, H. D. Critchley, T. van Amelsvoort, J. Suckling, A. Simmons, T. Sigmundsson, K. Greenwood, A. Russell, N. Schmitz, F. Happe, P. Howlin e D. G. Murphy. Brain anatomy and sensorimotor gating in asperger's syndrome. *Brain*, 125:1594 – 1606, 2002. 9
- [Mil11] Judith H Miles. Autism spectrum disorders—a genetics review. *Genetics in Medicine*, 13:278–294, 2011. 5
- [MJ07] Heinrichs M1 e Gaab J. Neuroendocrine mechanisms of stress and social interaction: implications for mental disorders. *Curr Opin Psychiatry*, páginas 158–162, 2007. 6
- [MKS⁺13] Sophia Mueller, Daniel Keeser, Andrea C. Samson, Valerie Kirsch, Janusch Blautzik, Michel Grothe, Okan Erat, Michael Hegenloh, Ute Coates, Maximilian F. Reiser, Kristina Hennig-Fast e Thomas Meindl. Convergent findings of altered functional and structural brain connectivity in individuals with high functioning autism: A multimodal mri study. *PLoS ONE*, 8(6):e67329, 06 2013. 5, 6
- [MN01] David J. Marcus e Charles A. Nelson. Neural bases and development of face recognition in autism. *CNS Spectrums*, 6:36–44,57–59, 1 2001. 52
- [MP02] M.U. Manto e M. Pandolfo. *The Cerebellum and Its Disorders*. Cambridge University Press, 2002. 49
- [MPS⁺09] Stewart H. Mostofsky, Stephanie K. Powell, Daniel J. Simmonds, Melissa C. Goldberg, Brian Caffo e James J. Pekar. Decreased connectivity and cerebellar activity in autism during motor task performance. *Brain*, 132(9):2413–2425, 2009. 50
- [MSJF04] NJ Minshew, K Sung, BL Jones e JM Furman. Underdevelopment of the postural control system in autism. *Neurology*, 63(11):2056–2061, 2004. 5
- [MVTN04] Just MA1, Cherkassky VL, Keller TA e Minshew NJ. Cortical activation and synchronization during sentence comprehension in high-functioning autism: evidence of underconnectivity. *Brain*, páginas 1811–21, 2004. 9
- [MW07] N. J. Minshew e D. L. Williams. The new neurobiology of autism: cortex, connectivity, and neuronal organization. *Archives of Neurology*, 64:945 – 950, 2007. 3
- [NJM⁺14] Mary Beth Nebel, Suresh E. Joel, John Muschelli, Anita D. Barber, Brian S. Caffo, James J. Pekar e Stewart H. Mostofsky. Disruption

- of functional organization within the primary motor cortex in children with autism. *Human Brain Mapping*, 35(2):567–580, 2014. 8, 52
- [NJRT⁺14] Thomas Nickl-Jockschat, Claudia Rottschy, Johanna Thommes, Frank Schneider, Angela R. Laird, Peter T. Fox e Simon B. Eickhoff. Neural networks related to dysfunctional face processing in autism spectrum disorder. *Brain Structure and Function*, páginas 1–17, 2014. 52
- [NJW02] A. Ng, M. Jordan e Y. Weiss. On spectral clustering: analysis and an algorithm. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 14:849 – 856, 2002. 35
- [NMMA02] Michele Noterdaeme, Katrin Mildenerger, Falk Minow e Hedwig Amorosa. Evaluation of neuromotor deficits in children with autism and children with a specific speech and language disorder. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 11(5):219–225, 2002. 4
- [OLKT90] S Ogawa, T M Lee, A R Kay e D W Tank. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(24):9868–9872, 1990. 11
- [Org93] World Health Organization. *The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Diagnostic Criteria for Research*. Nonserial Publication. World Health Organization, 1993. 4
- [OTM⁺92] S Ogawa, D W Tank, R Menon, J M Ellermann, S G Kim, H Merkle e K Ugurbil. Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(13):5951–5955, 1992. 11
- [PABA96] J. Piven, S. Arndt, J. Bailey e N. Andreasen. Regional brain enlargement in autism: a magnetic resonance imaging study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 35:530 – 536, 1996. 9
- [PBS⁺12] Jonathan D. Power, Kelly A. Barnes, Abraham Z. Snyder, Bradley L. Schlaggar e Steven E. Petersen. Spurious but systematic correlations in functional connectivity {MRI} networks arise from subject motion. *NeuroImage*, 59(3):2142 – 2154, 2012. 20, 45
- [PLF⁺13] Aarthi Padmanabhan, Andrew Lynn, William Foran, Beatriz Luna e Kirsten O’Hearn. Age related changes in striatal resting state functional connectivity in autism. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7(814), 2013. 50

- [PMN11] R.A. Poldrack, J.A. Mumford e T.E. Nichols. *Handbook of Functional MRI Data Analysis*. Cambridge University Press, 2011. 11, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27
- [PVZ05] Carlos A. Pardo, Diana L. Vargas e Andrew W. Zimmerman. Immunity, neuroglia and neuroinflammation in autism. *International Review of Psychiatry*, 17(6):485–495, 2005. 6
- [RBBB07] Gina Rippon, Jon Brock, Caroline Brown e Jill Boucher. Disordered connectivity in the autistic brain: Challenges for the 'new psychophysiology'. *International Journal of Psychophysiology*, 63(2):164 – 172, 2007. Cognitive Neuroscience: Contributions from Psychophysiology. 3
- [RM03] J. L. R. Rubenstein e M. M. Merzenich. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes, Brain and Behavior*, 2(5):255–267, 2003. 9
- [Rou87] Peter J. Rousseeuw. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *Journal of Computational and Applied Mathematics*, 20(0):53 – 65, 1987. 2, 37
- [RRdlIRS06] A.P. Reynolds, G. Richards, B. de la Iglesia e V.J. Rayward-Smith. Clustering rules: A comparison of partitioning and hierarchical clustering algorithms. *Journal of Mathematical Modelling and Algorithms*, 5(4):475–504, 2006. 34
- [S.00] Grossberg S. The complementary brain: unifying brain dynamics and modularity. *Trends in Cognitive Sciences*, 4:233 – 246, 2000. 1
- [Sar06] Gordon E. Sarty. *Computing Brain Activity Maps from fMRI Time-Series Images*. Cambridge University Press, 1 edição, Novembro 2006. 14, 36
- [SCE09] M. Semrud-Clikeman e P.A.T. Ellison. *Child Neuropsychology: Assessment and Interventions for Neurodevelopmental Disorders, 2nd Edition*. Behavioral Science. Springer, 2009. 52
- [SIG07] Scottish Intercollegiate Guidelines Network SIGN. Assessment, diagnosis and clinical interventions for children and young people with autism spectrum disorders. 98, 2007. 5
- [SKM⁺08] Senthil K. Sundaram, Ajay Kumar, Malek I. Makki, Michael E. Behen, Harry T. Chugani e Diane C. Chugani. Diffusion tensor imaging of frontal lobe in autism spectrum disorder. *Cerebral Cortex*, 18(11):2659–2665, 2008. 9

- [SM00] J. Shi e J. Malik. Normalized cuts and image segmentation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 22:888 – 905, 2000. 35
- [SMS⁺08] A. C. Stanfield, A. M. McIntosh, M. D. Spencer, R. Philip, S. Gaur e S. M. Lawrie. Towards a neuroanatomy of autism: a systematic review and meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies. *Eur Psychiatry*, 23:289 – 299, 2008. 9
- [SPE⁺07] Saasha Sutera, Juhi Pandey, EmmaL. Esser, MichaelA. Rosenthal, LeandraB. Wilson, Marianne Barton, James Green, Sarah Hodgson, DianaL. Robins, Thyde Dumont-Mathieu e Deborah Fein. Predictors of optimal outcome in toddlers diagnosed with autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 37(1):98–107, 2007. 8
- [SS10] A. Siegel e H.N. Saprú. *Essential Neuroscience*. Point (Lippincott Williams & Wilkins). Lippincott Williams & Wilkins, 2010. 50, 52
- [Sto14] Catherine J. Stoodley. Distinct regions of the cerebellum show grey matter decreases in autism, adhd and developmental dyslexia. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8(92), 2014. 50
- [SWP⁺13] Feng Shi, Li Wang, Ziwen Peng, Chong-Yaw Wee e Dinggang Shen. Altered modular organization of structural cortical networks in children with autism. *PLoS ONE*, 8(5):e63131, 05 2013. 5
- [TMLP⁺02] N. Tzourio-Mazoyer, B. Landeau, D. Papathanassiou, F. Crivello, O. Etard, N. Delcroix, B. Mazoyer e M. Joliot. Automated anatomical labeling of activations in {SPM} using a macroscopic anatomical parcellation of the {MNI} {MRI} single-subject brain. *NeuroImage*, 15(1):273 – 289, 2002. 25
- [TMM05] F. Toal, D. G. Murphy e K. C. Murphy. Autistic-spectrum disorders: lessons from neuroimaging. *Br J Psychiatry*, 187:395 – 397, 2005. 9
- [TSK06] P.N. Tan, M. Steinbach e V. Kumar. *Introduction to Data Mining*. Pearson International Edition. Pearson Addison Wesley, 2006. 33, 34
- [TTN⁺98] Philip Teitelbaum, Osnat Teitelbaum, Jennifer Nye, Joshua Fryman e Ralph G. Maurer. Movement analysis in infancy may be useful for early diagnosis of autism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(23):13982–13987, 1998. 4
- [UJ10] S. Ulmer e O. Jansen. *fMRI: Basics and Clinical Applications*. Springer, 2010. 11

- [VB03] Marinus T. Vlaardingerbroek e Jaques A. den Boer. *Magnetic resonance imaging : theory and practice*. Springer, Berlin, New York, 3 edição, 2003. 11
- [VCG12] Marlies E. Vissers, Michael X Cohen e Hilde M. Geurts. Brain connectivity and high functioning autism: A promising path of research that needs refined models, methodological convergence, and stronger behavioral links. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(1):604 – 625, 2012. 3
- [VM03] D. Verma e M. Meila. A comparison of spectral clustering algorithms. *University of Washington*, 2003. 2, 35
- [Was11] Sam Wass. Distortions and disconnections: Disrupted brain connectivity in autism. *Brain and Cognition*, 75(1):18 – 28, 2011. 9
- [WS98] D. J. Watts e S. H. Strogatz. Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature*, 393:440 – 442, 1998. 1
- [Wu12] J. Wu. *Advances in K-means Clustering: A Data Mining Thinking*. Springer Theses. Springer, 2012. 32
- [XW09] Rui Xu e Don Wunsch. *Clustering*. Wiley-IEEE Press, 2009. 28, 29, 31, 32, 33, 34, 36
- [ZBL⁺09] Lonnie Zwaigenbaum, Susan Bryson, Catherine Lord, Sally Rogers, Alice Carter, Leslie Carver, Kasia Chawarska, John Constantino, Geraldine Dawson, Karen Dobkins, Deborah Fein, Jana Iverson, Ami Klin, Rebecca Landa, Daniel Messinger, Sally Ozonoff, Marian Sigman, Wendy Stone, Helen Tager-Flusberg e Nurit Yirmiya. Clinical assessment and management of toddlers with suspected autism spectrum disorder: Insights from studies of high-risk infants. *Pediatrics*, 123(5):1383–1391, 2009. 8