

**Identificação de alterações na estrutura
de clusterização associadas com o
neurodesenvolvimento**

Grover Enrique Castro Guzman

DISSERTAÇÃO APRESENTADA
AO
INSTITUTO DE MATEMÁTICA E ESTATÍSTICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
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 auxílio financeiro do CNPq

São Paulo, 10 de abril de 2017

Identificação de Alterações na Estrutura de Clusterização das Redes Funcionais do Cérebro Associadas com o Neurodesenvolvimento

Esta versão da dissertação contém as correções e alterações sugeridas pela Comissão Julgadora durante a defesa da versão original do trabalho, realizada em 01/08/2016. Uma cópia da versão original está disponível no Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo.

Comissão Julgadora:

- Prof. Dr. André Fujita - IME-USP
- Prof. Dr. Joana Bisol Balardin - Hospital Albert Einstein
- Prof. Dr. Raphael Yokoingawa de Camargo - UFABC

Agradecimentos

Agradeço a meus pais: Enrique e Roquila, aos meus irmãos: Edson e Erick, obrigado pela compreensão, apoio e incentivo em cada projeto de vida que faço. Ao meu orientador, professor André Fujita pela paciência, disposição contínua, ensinamentos, e principalmente por dar-me a oportunidade de pesquisar nesta área.

Gostaria de agradecer também ao professor João Ricardo Sato pelas sugestões e observações dadas no exame de qualificação, as quais foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Aos meus amigos: Miguel, Mariela, Hans, Jairo, Waldir; obrigado pelo apoio e amizade. Aos meus amigos do Fujita team: Maciel, Fernando, Adele, Suzana, Taiane, Juan, Paulo, e Jaqueline; obrigado pelo apoio e as críticas feitas durante o desenvolvimento de este projeto. Em especial agradeço a Nancy por sua amizade, paciência, compreensão e momentos compartilhados.

Finalmente, agradeço ao CNPq pelo apoio financeiro durante o desenvolvimento do projeto de mestrado, pois permitiu minha dedicação integral na pesquisa.

Resumo

Castro , G.E.G. **Identificação de Alterações na Estrutura de Clusterização das Redes Funcionais do Cérebro Associadas com o Neurodesenvolvimento**. 2016. 120 f. Tese (Mestrado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A caracterização das alterações das redes funcionais do cérebro durante o neurodesenvolvimento é crucial para entender como o cérebro se desenvolve e também suas associações com diversas desordens neurológicas. Essas mudanças podem ser identificadas mediante a aplicação de técnicas estatístico-computacionais. No entanto, poucos estudos levam em conta a propriedade modular do cérebro e sua trajetória durante o desenvolvimento. Assim, foi desenvolvido um método que identifica as regiões de interesse do cérebro (ROIs) associadas com a idade utilizando um índice de ajuste à rede (*cluster*). Em seguida, o método desenvolvido foi aplicado no conjunto de dados público ABIDE composto de imagens de ressonância magnética funcional (fMRI) de 573 indivíduos com desenvolvimento típico sob o estado de repouso. Dez regiões (tronco cerebral, polo temporal direito, planum polare direito, polo frontal bilateral, putamen esquerdo, córtex cuneal direito, córtex precuneus esquerdo, lobo parietal superior direito, e giro frontal superior direito) foram obtidas, cujos índices de ajuste ao *cluster* estão associados com a idade. Finalmente, os indivíduos foram divididos em três grupos de acordo com a idade: Crianças (6 – 12 anos), Adolescentes (13 – 18 anos), e Adultos (19 – 31 anos) com o objetivo de identificar como a estrutura de clusterização dessas regiões está associada com o neurodesenvolvimento.

Palavras-chave: Clusterização, grafos, fMRI em estado de repouso, ABIDE, neurodesenvolvimento.

Abstract

Castro , G.E.G. **Identification of alterations in the clustering structure of functional brain networks associated with neurodevelopment** . 2016. 120 f. Tese (Mestrado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

The characterization of the alterations in brain functional networks during development is crucial to understand how the brain evolves and also its associations with diverse neurological disorders. These changes can be identified through ad hoc computational and statistical methods. However, few studies take account the modular structure of the brain and its trajectory along neurodevelopment. Thus, we developed a method that identifies brain's regions of interest associated with age by using a network fitness index. Then, we applied the developed method to a large functional magnetic resonance imaging (fMRI) dataset (ABIDE Consortium) composed of 573 subjects with typical development under a resting state protocol. Ten regions were obtained whose clustering fitness indexes are statistically associated with age, namely brain stem, right temporal pole, right planum polare, left and right frontal pole, left putamen, right cuneal cortex, left precuneus cortex, right superior parietal lobule, and right superior frontal gyrus. Finally, the subjects were divided in three groups according to age: infants (6 – 12 years), adolescents (13 – 18 years), and adults (19 – 31 years) to identify how the clustering of those regions change with age.

Keywords: Clustering, Graphs, resting state fMRI, ABIDE, neurodevelopment.

Sumário

Lista de Figuras	ix
1 Introdução	1
2 Imagens de ressonância magnética funcional (fMRI)	3
2.1 Pre-processamento dos dados	5
2.1.1 Pipeline de pré-processamento	7
2.2 Regiões de interesse	8
2.3 Visualização dos resultados	9
2.4 Bancos de dados fMRI	10
2.4.1 Dados brutos	11
2.4.2 Imagens parametrizadas	11
2.4.3 Coordenadas	12
3 Mudanças do cérebro com a idade	15
3.1 Mudanças estruturais	15
3.2 Mudanças funcionais	18
3.2.1 Conectividade Funcional	18
3.2.2 Redes de estado de repouso	19
4 Materiais e métodos	27
4.1 Clusterização	27
4.1.1 O que é um <i>cluster</i> ?	28
4.1.2 Métodos de clusterização	28
4.1.3 Seleção do número de <i>clusters</i>	31
4.1.4 Estatística da silhueta	31
4.2 Dados	32
4.3 Construção das redes de conectividade	32
4.4 Identificação das regiões do cérebro associadas com a idade	33
5 Resultados e discussões	35
5.1 Resultados	35
5.2 Discussões	36

6 Conclusão	45
--------------------	-----------

Referências Bibliográficas	47
-----------------------------------	-----------

Lista de Figuras

2.1	Escâner para ressonância magnética funcional	4
2.2	Resposta de um <i>voxel</i> ao longo do tempo	5
2.3	Sistema de coordenadas Talairach	6
2.4	Diagrama de fluxo das etapas de pré-processamento dos dados fMRI. Figura adaptada de (Vid14).	8
2.5	Vista 3D e cortes axiais do atlas CC400.	9
2.6	Exemplo do programa MRICron.	10
2.7	Tipos de dados obtidos num típico <i>pipeline</i> de análise.	11
2.8	Número de publicações que reportaram dados reduzidos.	12
3.1	Figura da estrutura celular do córtex visual e o aumento das sinapses nos primeiros meses de vida. Figura adaptada de (JDH15).	16
3.2	RSN obtidas de 12 crianças	21
3.3	Desenvolvimento das redes de controle de tarefas	23
3.4	Desenvolvimento das redes de controle de tarefas e a rede de modo padrão da infância até a adultez	24
5.1	Estatística da silhueta para determinar o número de <i>clusters</i>	36
5.2	Vista tridimensional e cortes sagitais das cinco sub-redes obtidas com o método de clusterização espectral.	37
5.3	Pipeline do análise dos dados	38
5.4	ROIs associadas a idade.	39
5.5	Linhas ajustadas das dez ROIs associadas com a idade.	40
5.6	Mudança de <i>cluster</i> das ROIs associadas com a idade.	41

Capítulo 1

Introdução

O cérebro humano é um sistema complexo composto por aproximadamente 100 bilhões de neurônios e mais do que 60 trilhões de conexões os quais dão origem à percepção, memória, pensamento abstrato, comportamento complexo, e inclusive a consciência. Estes processos são gerados pela interação de conjuntos de redes segregadas que emergem de relacionamentos complexos entre uma variedade de células nervosas organizadas em circuitos e áreas funcionais (PJS10). Estas áreas funcionais sofrem transformações complexas ao longo da vida. Em especial na transição da infância à fase adulta; a qual envolve grandes mudanças das funções cognitivas e emocionais as quais estão governadas não só por processos biológicos programados, mas também pela interação dinâmica entre o cérebro, o corpo, e o ambiente. Estes guiam a modificação da morfologia e o comportamento até um estado “maduro” do cérebro (PJS10; Spo11; K.13). Diversas evidências suportam que essas mudanças são o resultado da poda das sinapses e a mielinização observada a nível neuronal (GGL⁺04; JT10). Assim, os estudos das trajetórias dessas redes neurais podem proporcionar um melhor entendimento da cognição e da estrutura hierárquica dos circuitos neurais durante o desenvolvimento (Spo11).

A estrutura do cérebro muda durante o desenvolvimento da infância à fase adulta. Por exemplo: o *operculum* frontal, o córtex orbitofrontal posterior, o córtex piriforme, córtex temporal médio, e o córtex occipito-temporal apresentam alterações lineares associadas com a idade na espessura cortical e volume de matéria branca. O córtex frontal, córtex parietal e os lobos temporais apresentam trajetórias quadráticas no volume de matéria cinza com valor máximo na adolescência; enquanto o córtex frontal médio, córtex cingulado, e o córtex frontal inferior seguem uma trajetória de maturação no volume de matéria branca, matéria cinza, e a espessura cortical (GBJ⁺99; SPT⁺03; GGL⁺04; STL⁺04).

A ressonância magnética funcional em estado de repouso (rsfMRI do Inglês *resting state functional Magnetic Resonance Imaging*) é utilizada para estudar a organização funcional do cérebro humano. Este método permite identificar a dependência estatística entre sinais dependentes do nível do sangue (BOLD do Inglês *Blood Oxygen Level Dependent signal*) espontâneos entre duas regiões do cérebro (BZYHH95; SL08). O rsfMRI permite avaliar a conectividade funcional em todo o cérebro, a qual pode ser descomposta em sub-redes (módulos, ou *clusters*) conhecidas como as redes do estado de repouso (RSN do Inglês *Resting State Networks*) (BZYHH95; DRB⁺06; BKY13).

Os primeiros estudos utilizando rsfMRI sobre as trajetórias funcionais/estruturais da rede do cérebro da infância até a fase adulta encontraram evidências de segregação funcional ao longo do tempo (DFM⁺07; FDC⁺07). Estes estudos verificaram que as redes do cérebro das crianças estão organizadas predominantemente por sua proximidade anatômica; enquanto nos adultos estão organizadas por relações funcionais, o que significa que a organização das redes funcionais do cérebro muda de uma organização local para uma organização distribuída. Estudos subsequentes

sugerem que as crianças apresentam forte conectividade entre áreas corticais e subcorticais e fraca conectividade entre áreas corticais; enquanto os adultos, apresentam forte conectividade entre áreas corticais e fraca conectividade entre áreas corticais e subcorticais (SMM09; PJS10).

Os métodos mais utilizados para explorar as propriedades das redes do cérebro vêm de um campo da matemática chamado teoria dos grafos. Um grafo é composto de dois conjuntos: um conjunto de nós e um conjunto de arestas, onde cada aresta liga dois nós. Muitos sistemas biológicos, sociais e tecnológicos, cujos elementos interagem um com outro podem ser representados como um grafo. Portanto, podemos representar o cérebro como uma rede com componentes interatuando, cuja arquitetura dá suporte às funções cognitivas. Estudos baseados em métodos de análise de grafos mostraram que a rede do cérebro tem características funcionais e estruturais como os *hubs* (regiões altamente conectados), topologia de mundo pequeno, conectividade econômica e arquitetura modular; as quais se mantêm com a idade (PJS10; Spo11; BS12). Cada uma destas características e sua associação com a idade foram capturadas com diferentes métodos da teoria dos grafos. Os módulos (*clusters* ou sub-redes) de uma rede complexa são subconjuntos de nós que estão densamente conectados entre eles e escassamente conectados a outros módulos. Esta propriedade é uma das características principais do cérebro; pois permite uma rápida adaptação ou evolução do cérebro em resposta as mudanças das condições do ambiente, já que pode desenvolver novas funcionalidades mudando um módulo por vez sem arriscar-se a perder as funções que já foram bem adaptadas e sem pôr em perigo a função do cérebro inteiro (MLB10). No entanto, poucos estudos levam em conta a modularização de todo o cérebro e sua trajetória ao longo do neurodesenvolvimento. Por exemplo, (FCP⁺09; HWW⁺09; MAMB09) estudaram a influência da idade na estrutura modular do cérebro. (HWW⁺09) fez o estudo em adultos (de 25 até 65 anos) enquanto (FCP⁺09) se focou em crianças, adolescentes e adultos jovens (7 até 31 anos). (MAMB09) fez a comparação de adultos jovens (18 até 26 anos) e adultos velhos (59 até 74) avaliando a organização modular.

Neste trabalho testamos a hipótese de que algumas regiões do cérebro mudam em termos da estrutura de clusterização ao longo do neurodesenvolvimento. Para abordar esta hipótese, primeiro definimos um índice que mede o quão bem uma região de interesse está clusterizada (*i.e.* índice de ajuste). Após isso, desenvolvemos um método para identificar as regiões de interesse cuja conectividade funcional esteja associada com a idade. Em outras palavras, nós verificamos quais regiões de interesse apresentam mudanças em seu índice de ajuste. A ideia intuitiva é que se o índice de ajuste se altera ao longo do neurodesenvolvimento, significa que a região apresenta uma alteração em termos de funcionalidade. Por exemplo, a conectividade intra-modular decresce enquanto a sua conectividade inter-modular aumenta. Finalmente, o método desenvolvido foi aplicado em um conjunto de dados de fMRI composto de 493 indivíduos de menos de 31 anos de idade (de 6.47 até 30.78 anos) coletados como parte do Consórcio ABIDE (*The Autism Brain Imaging Data Exchange*).

Capítulo 2

Imagens de ressonância magnética funcional (fMRI)

Entender a organização funcional do cérebro humano tem motivado muitos neurocientistas durante os últimos 100 anos; no entanto, o interesse em saber como o cérebro e a mente estão relacionados é algo tão antigo quanto a humanidade (AAT11; Bux09).

Até antes de serem desenvolvidos os métodos de neuroimagem, a única maneira de estudar como as funções cognitivas estavam organizadas no cérebro era por meio da análise de indivíduos com lesão no cérebro devido a infecções, golpes ou apoplexias. O precursor de este tipo de análise foi Pierre Paul Broca, quem pela primeira vez identificou a localização de uma função cognitiva no córtex do cérebro. Apesar deste tipo de análise ter tornado possível a localização de outras funções cognitivas no córtex cerebral, o progresso foi limitado pois só eram estudadas pessoas com algum dano cerebral (AAT11).

Com o objetivo de localizar as funções mentais em indivíduos sem lesões, os pesquisadores desenvolveram outro método conhecido como eletroencefalograma (EEG), o qual consiste em colocar eletrodos no couro cabeludo a fim de detectar as atividades elétricas associadas à função cognitiva. Apesar de dar uma informação direta da atividade neural e permitir estimar a localização das fontes de atividade, o EEG não é suficiente para produzir um mapa detalhado dos padrões de ativação das áreas subcorticais (Bux09). Em contraposição, localizar a atividade metabólica e a mudança do fluxo de sangue que seguem a atividade neural é mais viável. Na década de 1980, muitos pesquisadores começaram a usar a tomografia por emissão de pósitrons (PET do inglês *Positron Emission Tomography*) para medir aspectos da função cerebral, como o fluxo de sangue e o metabolismo da glicose por meio do uso de marcadores radioativos ligados às moléculas da água ou glicose. O uso da PET foi restrito devido à exposição do indivíduo ao material radioativo, o que punha em perigo a saúde do indivíduo, e a pouca disponibilidade deste tipo de sistemas (AAT11; Bux09).

Nos princípios da década de 1980 o Imageamento por Ressonância Magnética (MRI do inglês *Magnetic Resonance Imaging*) foi desenvolvido e instalado definitivamente como a principal escolha nas aplicações de imageamento estrutural do cérebro. A principal razão foi a capacidade de diagnosticar a Esclerose Múltipla (MS do Inglês *Multiple Sclerosis*) fornecendo imagens com excelente contraste de tecido mole em alta resolução espacial sem radiação ionizante, permitindo coletar imagens dos cortes do cérebro com diferentes orientações. No entanto, este método ainda não permitia o estudo funcional do cérebro. Já em 1992 desenvolveram outro método baseado no MRI, conhecido como Imageamento por Ressonância Magnética Funcional (fMRI do Inglês *functional Magnetic Resonance Imaging*), o qual permitiu observar a atividade metabólica do cérebro (AAT11).

O fMRI tornou-se uma ferramenta chave dos neurocientistas para o mapeamento dos padrões

de ativação do cérebro tanto em pessoas diagnosticadas com alguma doença como controles. Esses padrões de ativação do cérebro são muito utilizados para estudar a organização do cérebro e também para aplicações clínicas (AAT11).

O fMRI é baseado na mudança da atividade metabólica no cérebro. Em linhas gerais, com a ativação de uma região do cérebro devido a alguma atividade cognitiva, o metabolismo da glicose, consumo de oxigênio, fluxo e volume do sangue nessa região aumenta; enquanto a fração de extração do oxigênio (OEF do inglês *Oxygen Extraction Fraction*) e o volume de oxigênio entregue que é metabolizado pelos neurônios diminui. A hemoglobina a molécula no sangue que transporta oxigênio, perde oxigênio pelo metabolismo dos neurônios e torna-se em desoxihemoglobina, mudando assim suas propriedades magnéticas provocando a mudança do seu sinal na ressonância magnética (*resposta hemodinâmica*), a qual aumenta quando o sangue torna-se mais oxigenado e diminui no caso contrário. Portanto, quando uma região do cérebro é ativada, a quantidade de oxigênio nessa região é maior do que a taxa metabólica de oxigênio ($CMRO_2$) o que leva a uma redução da fração de consumo de oxigênio. Tomados em conjunto esses dois fenômenos, produzem o efeito BOLD (do inglês *Blood Oxygenation Level Dependent*), o qual pode ser interpretado como o aumento local do sinal de ressonância magnética devido à redução da fração de consumo de oxigênio durante o aumento da atividade neuronal (P.W11).

Na figura 2.1 se mostra o equipamento para a aquisição de dados fMRI apenas como ilustração.



Figura 2.1: Escâner para ressonância magnética funcional (<http://www.healthcare.siemens.com/magnetic-resonance-imaging/3t-mri-scanner/magnetom-skyra>).

A maioria dos estudos com fMRI utilizam o sinal BOLD pois ele provê a localização da atividade neural. No entanto, esta medida não é uma medida direta da atividade neural; já que o sinal BOLD é uma medida indireta e complexa cuja interpretação é controversa. De fato, existem duas razões principais que tornam difícil a interpretação do sinal BOLD: (1) a relação incompleta entre a mudança da atividade neural e as consequentes mudanças do fluxo do sangue no cérebro, volume do sangue no cérebro e metabolismo do oxigênio; e (2) a combinação das mudanças do fluxo de sangue, volume de sangue, e o metabolismo de oxigênio que produzem as mudanças de desoxihemoglobina não podem ser determinadas só do sinal BOLD, apesar de que o mecanismo de contraste do sinal BOLD é sensível às modulações da quantidade de desoxihemoglobina presente num *voxel*, (AAT11; PH15). Apesar desses dois pontos, o fMRI ainda é um dos métodos mais utilizados para coleta de informação relacionada a atividade neural.

Na figura 2.2 se apresenta uma ideia de como são os dados obtidos com fMRI. A fim de obter atividade neural no cérebro, o fMRI divide-o em pequenos blocos em forma de cubo chamados de *voxel*; onde cada um de estes pertence a uma localização no cérebro e além disso têm um valor associado que representa a atividade neural nesse *voxel*. Durante um experimento, aproximadamente a cada segundo é obtida uma imagem tridimensional (3D) do cérebro (volume) o qual é composto por dezenas de milhares de *voxels*. Assim, podemos conceber os dados fMRI de duas formas: (a) como uma sequência de volumes ao longo do tempo representada por uma matriz de

quatro dimensões (4D); e (b) como um volume, onde cada *voxel* tem sua série temporal associada que representa a mudança de atividade neural nesse *voxel* ao longo do tempo (veja figura 2.2).

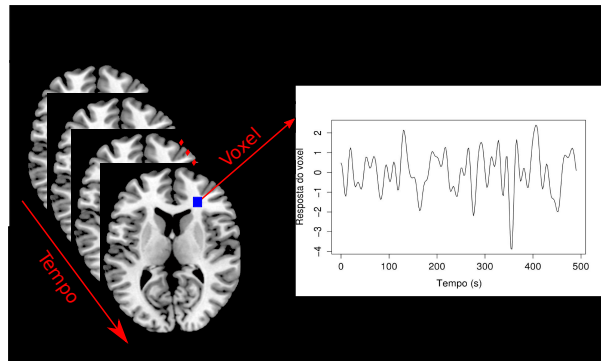


Figura 2.2: Resposta de um voxel ao longo do tempo. É obtido uma imagem do cérebro completo a cada instante de tempo.

A resposta hemodinâmica é lenta, portanto é difícil obter alta resolução temporal com fMRI, mesmo que as imagens possam ser obtidas rapidamente. As alterações do sinal hemodinâmico são observadas aproximadamente em dois segundos após o início da estimulação neural e atinge o máximo em aproximadamente 8 segundos (eMF10).

Nas seções seguintes apresentaremos os passos necessários para, a partir de amostras BOLD fMRI brutas, analisar bancos de dados públicos de fMRI e uma ferramenta para visualização dos resultados.

2.1 Pre-processamento dos dados

Antes de realizar a análise dos dados BOLD fMRI propriamente dito, ainda é necessário um passo importante: o pré-processamento.

O pré-processamento consiste essencialmente dos seguintes passos: (1) normalização global; (2) correção de movimento e realinhamento; (3) correção de temporização de fatia; (4) normalização espacial; (5) suavização espacial e (6) filtro temporal (P.W11). Cada um destes passos tem como objetivo remover artefatos das imagens fMRI, os quais são definidos como qualquer violação das suposições acerca da imagem que resulta na degradação da qualidade dos dados, os quais são: (i) cada série temporal provém só de um *voxel*; (ii) os dados em cada amostra correspondem só a um ponto no tempo; (iii) o ruído de um *voxel* não está relacionado com os outros *voxels*; (iv) o ruído num ponto no tempo não está relacionado com outros pontos no tempo; (v) as mudanças do sinal BOLD são causados só pelo paradigma experimental (HGM15). A seguir serão feitas explicações sucintas de cada um dos passos para corrigir os artefatos nas imagens fMRI.

Apesar da cabeça do indivíduo estar imobilizada dentro do equipamento de ressonância magnética, ainda surgem pequenos movimentos de cabeça devido ao batimento cardíaco e os movimentos respiratórios, violando assim a suposição (i). Na etapa de **correção de movimento** são corrigidos os efeitos de movimentação da cabeça, pois este faz que os *voxels* tenham um deslocamento na imagem e também podem causar uma descontinuidade no sinal BOLD. Os métodos para a 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. Geralmente, esta correção é feita mediante o realinhamento do volume do cérebro obtido em cada ponto no tempo de volta para o primeiro volume adquirido

(imagem alvo) no início da sessão de captura (Vid14; AAT11). No entanto, este método não remove completamente os artefatos induzidos sobre o sinal de fMRI; porque a movimentação da cabeça também altera o sinal obtido em diferentes pontos na aquisição da fatia (PBS⁺12; AAT11). Como resultado, os artefatos induzidos pelo movimento podem permanecer nas séries temporais (P.W11).

A correção de temporização de fatia é necessária já que as fatias do cérebro são adquiridas uma por vez, com defasagens de tempo de até vários segundos entre elas. Mesmo que foram desenvolvidos diferentes métodos para diminuir o tempo de defasagem (aquisição intercalada), estes métodos não diminuem a zero o tempo de defasagem. Portanto, duas fatias do cérebro são adquiridas em momentos diferentes, o que precisa ser sincronizado pois viola a suposição (ii). O objetivo deste passo é interpolar as imagens que foram obtidas para cada fatia para estimar os dados como se tivessem sido adquiridos no mesmo instante (P.W11; AAT11).

A normalização global ou a correção da intensidade da imagem em cada ponto da série temporal tem por objetivo remover qualquer tendência (*trend*) que acontece em todo o volume da imagem violando assim a suposição (iii), mediante a correção da intensidade da imagem em cada ponto da série temporal (P.W11).

Apesar do cérebro de pessoas diferentes compartilharem muitas características estruturais, nem o tamanho nem a forma do cérebro são uniformes, ou seja, muda de pessoa para pessoa. Para que os dados de fMRI de diferentes indivíduos possam ser utilizados, precisa-se homogeneizar o tamanho e a forma do cérebro. O processo de homogeneização tanto do tamanho quanto da forma do cérebro é conhecido como normalização espacial, cujo objetivo é fazer com que um *voxel* contenha o sinal BOLD de uma localização anatômica para todas as pessoas. A série temporal desse *voxel* pode portanto ser comparado entre um grupo de pessoas para detectar diferenças ou similaridades. A normalização espacial do cérebro de uma pessoa adulta foi originalmente baseado no trabalho de *Talairach e Tournoux*, que observaram que o cérebro tem proporções espaciais consistentes. Eles definiram um sistema de coordenadas com o eixo horizontal ao longo da linha que junta a margem superior da comissura anterior (AC) e a margem posterior da comissura posterior (PC) (A linha AC-PC), e um eixo vertical paralelo ao plano sagital-médio e ortogonal à linha AC-PC. O terceiro eixo é direita-esquerda e é ortogonal aos eixos horizontal e vertical. O origem do sistema de coordenadas (0, 0, 0) é no ponto AC. Este sistema de coordenadas padrão para o cérebro humano é chamado de *sistema de coordenadas Talairach*, veja 2.3.

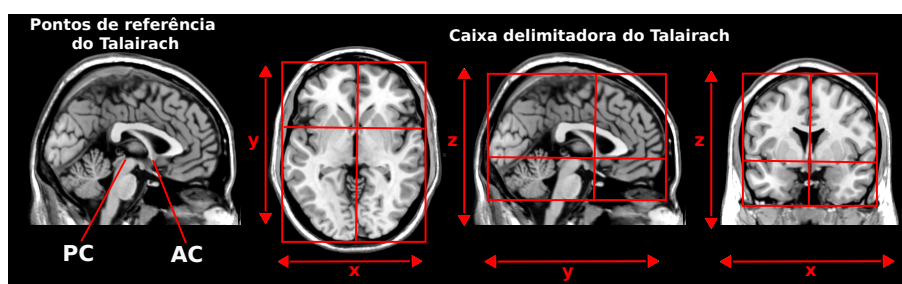


Figura 2.3: Sistema de coordenadas Talairach. Este sistema de coordenadas está definido por um número de pontos de referência. A primeira imagem da esquerda mostra os pontos de localização da Comissura Anterior (AC do Inglês Anterior Commissure) e a Comissura Posterior (PC do Inglês Posterior Commissure) estes dois pontos de referência determinam o ângulo da caixa delimitadora ao longo do eixo X. As imagens da direita mostram a caixa delimitadora do espaço de Talairach, o qual é definido pelo AC e pelo PC, ao longo do plano sagital médio e os limites superiores e inferiores do córtex. Este sistema define uma nomenclatura padrão para cada um dos eixos: X representa a dimensão esquerda-direita, Y representa a dimensão anterior-posterior e Z representa a dimensão inferior-superior (AAT11).

A partir deste sistema de coordenadas, *Talairach e Tournoux* criaram um atlas do cérebro baseado no cérebro de uma mulher idosa. Este atlas fornece uma maneira simples de determinar a localização anatômica de qualquer região. Seu modelo (do inglês, *template*) é uma imagem

representativa do atlas que fornece um alvo para o qual as imagens individuais podem ser alinhadas. *Talairach e Tournoux* desenvolveram também um procedimento para normalizar qualquer cérebro a seu modelo, usando um conjunto de marcadores anatômicos. Apesar deste atlas ter tido um papel importante no desenvolvimento do campo da neuroimagem, é problemático e seu uso é desaconselhado pelas seguintes razões: (1) Foi desenvolvido a partir do cérebro de uma mulher de 60 anos, portanto não é um atlas representativo para a população; (2) Na construção deste atlas só se basearam no estudo do hemisfério esquerdo e espelharam este para obter o hemisfério direito considerando assim uma simetria no cérebro, porém é uma representação inexata pois existem assimetrias entre os hemisférios (por exemplo: a localização do Giro de Heschl's); e (3) Está rotulada com as áreas de Brodmann, entretanto a precisão de esses rótulos são altamente ilusórios pois foram definidos manualmente por Talairach, quem não está seguro se o mapeamento feito foi certo (AAT11). A ideia de *Talairach e Tournoux* foi melhorada e diversos atlas e modelos tem sido desenvolvidos. Os modelos mais comuns utilizados para a normalização espacial são aqueles desenvolvidos no Instituto Neurológico de Montreal (MNI, do inglês *Montreal Neurological Institute*), conhecidos como MNI *templates*. Esses modelos foram criados para permitir o registro de forma automatizada em imagem por ressonância magnética (P.W11; AAT11). Na fase da normalização espacial deste trabalho, foi utilizado o modelo do atlas MNI NIHPD Objective 1 (FEM⁺09).

A suavização espacial consiste na aplicação de um filtro na imagem para remover as flutuações de alta frequência. A maneira mais comum de fazer a suavização espacial é mediante a convolução da imagem 3D com um filtro Gaussiano tridimensional (ou *kernel*). Este passo parece pouco intuitivo pois, ao aplicar um filtro, a imagem perde resolução. Porém, mas ao se fazer isso, além de eliminar flutuações de alta frequência também pode ajudar a reduzir a defasagem das posições das regiões funcionais entre diferentes indivíduos (P.W11; AAT11).

A filtragem temporal é outra maneira de reduzir os ruídos estruturados de cada *voxel*, como as flutuações de alta e baixa frequência que não podem ser atribuídas à atividade neural. O filtro passa-baixa é a estratégia de filtragem mais utilizada. Com este método, todas as tendências que estejam baixas de uma frequência, e todas as tendências que estejam acima de uma frequência são eliminadas. A escolha dos limites de alta e baixa frequência depende do estudo e do tipo de dados (P.W11; AAT11).

O tema de pré-processamento de dados fMRI é extenso e não é o objetivo deste trabalho prover uma base extensa do assunto. Assim a seguinte seção irá abordar a ferramentas que foi utilizada com o objetivo de pré-processar dados fMRI.

2.1.1 Pipeline de pré-processamento

Os passos para o pré-processamento dos dados seguem uma ordem como foi explicado na seção anterior, mas os métodos e parâmetros que são utilizados em cada passo mudam de acordo a como foram obtidos os dados. Para este trabalho, foi utilizado o *pipeline Athena*¹ disponibilizado pelo *Neuro Bureau*. Este pipeline permite pré-processar tanto dados de ressonância magnética estrutural quanto funcional, na figura 2.4 mostra-se as etapas executadas pelo *Athena* para dados de fMRI, pois as análises deste trabalho só foram aplicadas a esse tipo de dados. Entre as etapas do *Athena* está o realinhamento espacial, o qual corrige os deslocamentos induzidos no espaço pela movimentação do indivíduo, mas não corrige as alterações da intensidade resultante da interrupção dos estímulos físicos próprios da técnica MRI. Por isso, conforme representado na figura 2.4 também foi efetuada a correção *scrubbing* (PBS⁺12). O *scrubbing* baseia-se no uso de 6 parâmetros de movimentação (translações e rotações nos eixos *X, Y*, e *Z*) os quais são estimados na correção de movimento e nas mudanças de intensidade entre cada ponto da série temporal de

¹<http://www.nitrc.org/plugins/mwiki/index.php/neurobureau:AthenaPipeline>

cada *voxel*, logo são criados indicadores de qualidade FD (do inglês *Frame-wise Displacement*) e DVARS (do inglês *temporal Derivative of Timecourses RSM VARiance over voxels*), os quais definem os volumes que devem ser removidos da série temporal.

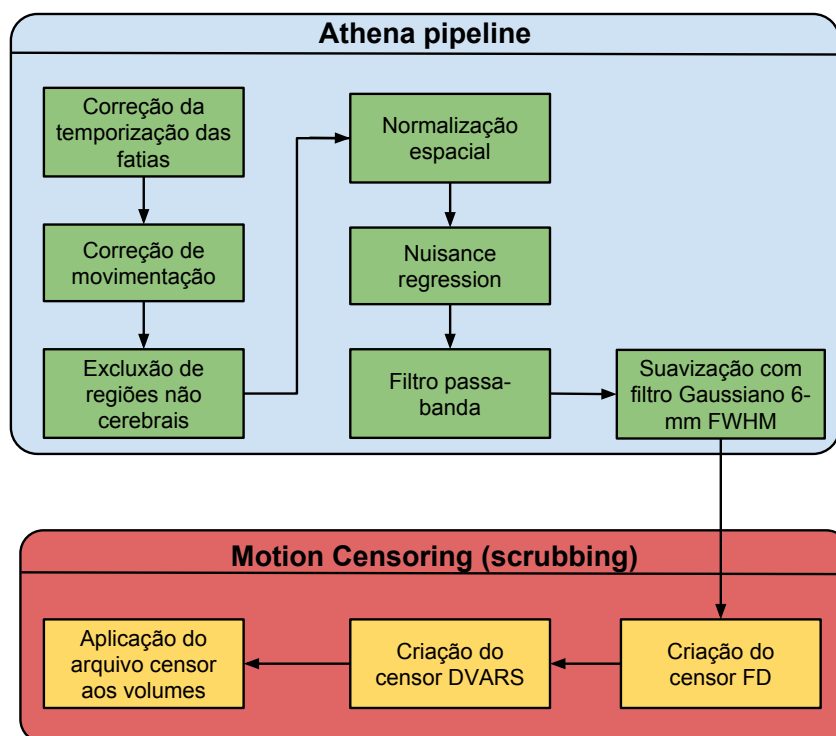


Figura 2.4: Diagrama de fluxo das etapas de pré-processamento dos dados fMRI. Figura adaptada de (Vid14).

2.2 Regiões de interesse

As ROIs são um conjunto de *voxels* que definem características funcionais ou estruturais do cérebro, utilizadas para definir regiões do cérebro a serem analisadas ou não. E para fazer a análise de dados fMRI deve-se decidir se a análise será realizada utilizando todos os *voxels* ou utilizando Regiões de Interesse (ROIs, do Inglês *Regions of Interest*).

As ROIs construídas a partir das características funcionais geralmente estão baseadas na análise de dados do próprio indivíduo, enquanto as ROIs estruturais são definidas em base da anatomia macroscópica, como a anatomia dos giros, já que existem diferenças consideráveis entre indivíduos. 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 continue sendo importante confirmar estes resultados com a anatomia real (AAT11).

Uma prática que requer cuidado é o uso de ROIs com base em atlas anatômicos construídos a partir de um único indivíduo, tal como o atlas AAL (do inglês *Automated Anatomical Labeling*) (AAT11) ou Talairach. Devido à incapacidade da normalização espacial para ajustar perfeitamente cérebros de diferentes indivíduos como descrito na seção 2.1, pois no processo de alinhamento pode haver erros de sobreposição entre qualquer grupo de indivíduos a esses atlas (AAT11).

Uma análise baseada em ROIs pode ser justificada pelos seguintes motivos: (1) Controlar a incidência do erro Tipo I (a hipótese nula é rejeitada sendo ela verdadeira) limitando o número de testes estatísticos para algumas ROIs, pois os métodos de correção para testes múltiplos como

por exemplo, FDR (do inglês *False Discovery Rate*) (BH95) ou Bonferroni (CM00) podem ser bastante conservadores e muitas vezes é preferível limitar a análise para um conjunto de ROIs ao invés de milhares de *voxels*, reduzindo assim o número de testes estatísticos a serem controlados; (2) Limitar a análise para uma região que é funcionalmente definida com base em estudos prévios; e (3) Utilizar ROIs para realizar uma melhor interpretação dos resultados significativos de um teste, pois é mais fácil discernir o padrão de atividade visualizando as ROIs nas diferentes condições de um mapa estatístico global do cérebro (AAT11).

Na figura 2.5 apresenta-se um atlas que pode ser utilizado para definir ROIs funcionais (CC400), disponibilizado pelo *Athena pipeline* o qual foi construído por um procedimento de clusterização espectral (CJH⁺12). Uma vez que os *voxels* de cada ROI do atlas escolhido tenham sido extraídos, os sinais dos *voxels* precisam ser resumidos à um único sinal representativo da ROI; um método comumente utilizado para calcular o sinal representativo consiste em calcular a média dos sinais extraídos dos *voxels* dentro da ROI (AAT11).

Um problema do uso de análise por ROIs é que, quando grandes ROIs anatômicas são utilizadas (por exemplo: todo o giro frontal superior), mesmo que a região contenha *voxels* significativamente ativos, esta ativação pode ocorrer em apenas uma pequena proporção dos *voxels* da ROI. O qual sugere que a média de toda a ROI poderia desfavorecer o sinal importante deste pequeno número de *voxels* com o dos *voxels* restantes não ativados. Este problema não tem uma solução amplamente aceita pelos neurocientistas, mas é recomendável realizar a análise por ROIs definidas por áreas funcionalmente coerentes ou relativamente pequenas (AAT11; Vid14).

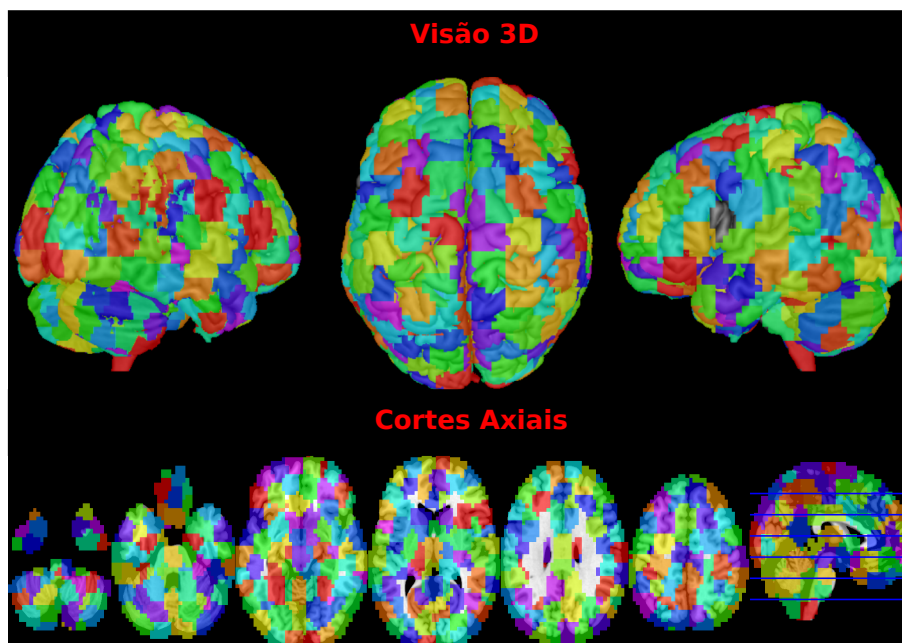


Figura 2.5: Vista 3D e cortes axiais do atlas CC400.

2.3 Visualização dos resultados

Após ter efetuado a análise estatística dos dados fMRI, é de interesse do pesquisador observar quais regiões do cérebro provêm quais resultados. Para fazer isso é necessário um programa que permita visualizar as imagens de ressonância magnética, que mostre os cortes axiais, coronais e sagitais, e adicionalmente uma visão renderizada em três dimensões (3D). O FSL View ² que é

²<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslview>

parte do pacote FSL, e o MRICron³ são exemplos de programas que podem ser utilizados com esta finalidade. Outro programa com funcionalidades semelhantes é o SPM *Statistical Parametric Mapping*, a qual é uma *toolbox* do programa MATLAB que pode ser utilizado também para o pré-processamento e análise de dados de imagem cerebral. Os resultados precisam ser sobrepostos na anatomia do cérebro, com tal motivo estes programas permitem escolher uma imagem anatômica para servir como plano de fundo (veja a figura 2.6), para que assim o pesquisador compreenda mais facilmente a localização de cada resultado (AAT11).

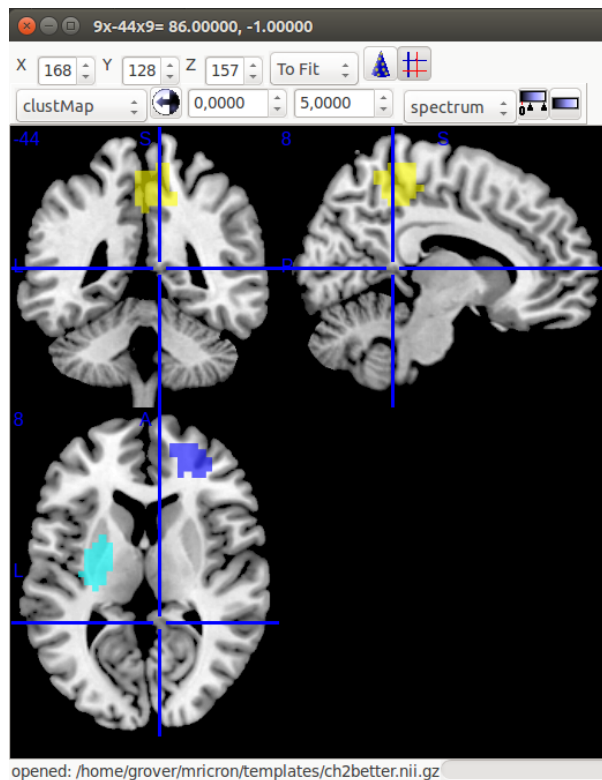


Figura 2.6: Exemplo do programa MRICron. Podem-se observar regiões coloridas sobrepostas numa imagem do cérebro, estas representam locais do cérebro considerados importantes após a análise dos dados.

2.4 Bancos de dados fMRI

Desde o aparecimento do MRI há 30 anos tem se produzido uma enorme quantidade de dados do cérebro humano. Desde 1990 até 2011 foram publicados perto de 22,000 publicações só utilizando fMRI, com um estimado de 12,000 bancos de dados, cada um com 12 indivíduos com uma hora de atividade cerebral coletada para cada um, e com um custo de aproximadamente \$300 a hora por indivíduo, totalizando em torno de 144.000 horas de vídeo com um custo total de \$43 milhões de dólares (PBG⁺12; BF15). Além disso, todos estes dados combinados representam ao redor de 144 terabytes de dados brutos e até 2.5 petabytes de dados processados, os quais são uma quantidade enorme de dados sobre o funcionamento do cérebro (PBG⁺12). Com o objetivo de compartilhar os dados e a informação destes dados, tem-se criado inúmeros bancos de dados de ressonância magnética funcional. Estes dados podem ser salvos em qualquer etapa do *pipeline* de análises: como dados primários - dados brutos; como dados intermediários - dados de imagens parametrizadas (SPI do Inglês *Statistical Parametric Image*); e como dados reduzidos - dados de

³<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/micro/mricron/>

coordenadas os quais são relatados nas publicações (BF15). Na imagem 2.7 mostra-se os tipos de bancos de dados de fMRI.

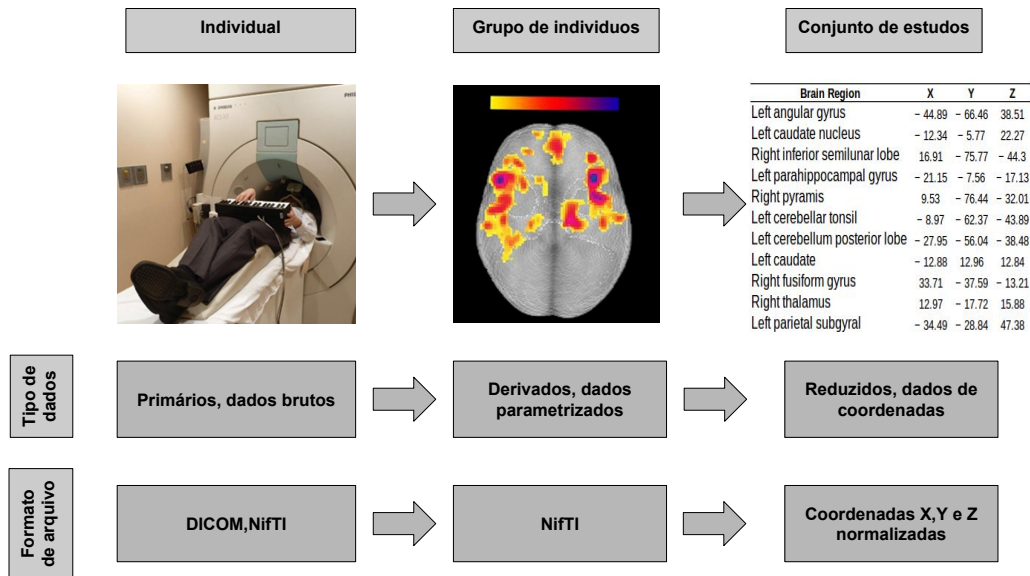


Figura 2.7: Na esquerda se mostra a aquisição dos dados brutos enquanto a pessoa toca o piano. No meio se mostra um exemplo de dados derivados, como uma imagem parametrizada que mostra as diferenças estatísticas no cérebro. Na direita, se mostra uma tabela de resultados relatados por (SSG⁺15).

2.4.1 Dados brutos

Também conhecido como dados primários, estes arquivos são os mais comuns. Cada centro coletor dos dados de fMRI salvam um arquivo de todos os *scans* feitos nos indivíduos. Estes arquivos são salvos em formato DICOM ou NIFTI. As amostras individuais de cada indivíduo são listadas com nomes alfanuméricos não identificáveis, definido pelos padrões éticos. Geralmente é utilizado uma folha de cálculo ou a lista de amostras para referenciar um arquivo e, se for relevante, contém informação adicional do indivíduo como a idade, gênero, teste cognitivo, lateralidade, tarefa utilizada durante o experimento, quociente de inteligência, e diagnóstico. Todo esse conjunto de dados adicionais são conhecidos como meta-dados os quais são importantes para interpretar os resultados. Ao longo dos últimos anos tem-se feito um grande esforço para disponibilizar os dados fMRI de maneira gratuita; não obstante este processo tem sido limitado por diversas razões como: a variabilidade de instrumentação e parâmetros de aquisição entre os centros de pesquisa, questões de confidencialidade do paciente, e principalmente pela vontade dos pesquisadores de proteger seus esforços e dinheiro investidos. Apesar destas barreiras, grandes quantidades de dados primários estão sendo mais acessíveis (BF15).

2.4.2 Imagens parametrizadas

Também conhecidos como dados derivados, estes dados são imagens tridimensionais que representam as medidas estatísticas derivados de um grupo após ter feito a normalização espacial dos dados brutos. Estes dados paramétricos podem representar as diferenças estatísticas na estrutura ou funcionalidade dependendo da análise. Todos que reportam dados de coordenadas utilizaram em algum instante as imagens parametrizadas. No entanto, não existem muitos bancos de dados livres que armazenem estes dados derivados. O banco de dados *online* mais co-

nhecido que contém imagens parametrizadas é o *The Surface Management System Database* (SumsDB, <http://sumsdb.wustl.edu/sums/index.jsp>). Este banco de dados permite aos usuários procurar imagens de fMRI parametrizadas que tem níveis de ativação dentro de uma área selecionada dentro de uma região de interesse. Também inclui uma grande quantidade de dados reduzidos (40,000 pontos no cérebro que foram relatados em 1300 estudos).

2.4.3 Coordenadas

Também conhecidos como dados reduzidos, este tipo de dados representam coordenadas (x,y,z) espacialmente normalizados (BF15). Estes pontos são reportados em publicações como pontos estatisticamente significativos. Cada ponto x-y-z referência um espaço do modelo (por exemplo, Talairach ou MNI) e geralmente representa o maior valor regional de uma imagem parametrizada. É por isso que estes dados são conhecidos como dados reduzidos. A diferença dos bancos com dados derivados, existem mais bancos de dados reduzidos como: BrainMap, SumsBD, Brede, AMAT, e Neurosynth; os quais foram analisados por (DM09). A figura 2.8 mostra o número de publicações que reportaram dados reduzidos e o número de estudos incluídos nos bancos de dados de coordenadas.

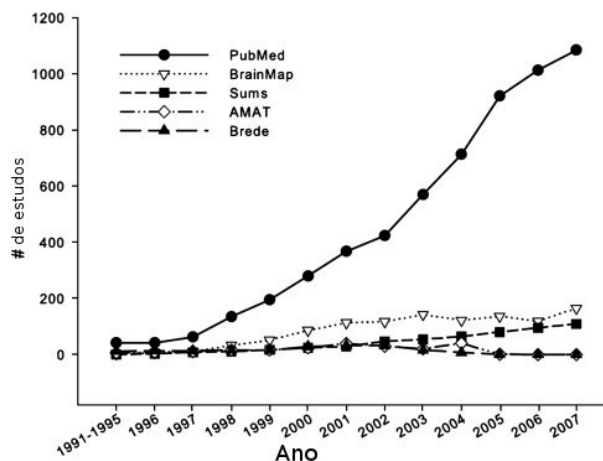


Figura 2.8: número total de estudos que reportaram dados reduzidos por anos e por número de estudos inseridos em bancos de dados de coordenadas. Imagem original (DM09).

Como pode ser observado na figura 2.8, houve um aumento no número de publicações feitas no PubMed até 2007 reportando dados reduzidos. Pode-se observar também que a maioria das publicações não incluíram seus resultados nos bancos de dados de coordenadas. Os bancos de dados mais promissores dentre o conjunto são o Neurosynth e o BrainMap, os quais serão detalhados nas seguintes linhas.

A maioria dos estudos não relatam seus resultados reduzidos nos bancos de dados como é mostrado na figura 2.8. Assim, em 2009 foi apresentado o Neurosynth como um *framework* que extrai automaticamente os dados reduzidos das publicações que relatam pontos (x, y, z). Estes dados são obtidos das colunas das tabelas que reportam os resultados (YPN⁺11). Esta ferramenta faz mais rápido o processo de recolecção de dados reduzidos, pois utiliza métodos de aprendizado de máquina e técnicas de mineração de texto, no entanto não diferencia ativações e desativações, contrastes experimentais, e o espaço de coordenadas. No momento da escrita Neurosynth tinha analisado 11,406 publicações e reportado 150,000 pontos (x,y,z) (<http://neurosynth.org/>).

O primeiro banco de dados reduzido foi o BrainMap (<https://www.brainmap.org/>). Este projeto foi criado com o alvo de prover resultados baseados em coordenadas ligados a meta-

dados experimentais que enfatizam os desenhos experimentais e condições comportamentais. Este banco de dados é mais confiável pois os resultados das publicações são inseridos no banco de dados de maneira manual pela equipe da BrainMap que demoram entre 30 a 60 minutos inserindo os dados de cada publicação. Garantindo assim maior precisão dos dados brindando assim dados mais completos e diferenciando desenhos experimentais, ativações e desativações, e o espaço de coordenadas a diferença do neurosynth. No momento da escrita o BrainMap tinha reportado 108,180 pontos de 2,804 estudos.

Nos últimos anos, o banco de dados BrainMap e Neurosynth têm sido utilizados para fazer meta-análises produzindo assim melhor entendimento da funcionalidade do cérebro (BF15).

Capítulo 3

Mudanças do cérebro com a idade

O cérebro humano é um dos sistemas mais complexos conhecidos pelo homem, pois está composto por 100 bilhões de neurônios que formam 60 trilhões de conexões. Mediante a interação de um conjunto de redes segregadas que emergem de relações complexas entre uma variedade desses elementos neurais organizados em circuitos e áreas funcionais dão origem a percepção, memória, pensamento abstrato, comportamento complexo, e até mesmo a consciência (PJS10).

O desenvolvimento do cérebro é um processo que se inicia na terceira semana da gravidez, quando ocorre a diferenciação das células neurais progenitoras, e se estende pelo menos até o final da adolescência. O desenvolvimento do cérebro é um processo dinâmico e adaptativo, capaz de ajustar-se a várias restrições que podem surgir a partir do próprio sistema biológico ou do ambiente. O termo “plasticidade neural” é usado para capturar o aspecto adaptativo do desenvolvimento cerebral, o qual é sua principal característica. Estudos sobre a plasticidade do cérebro adulto sugerem que a capacidade adaptativa do cérebro não é perdida completamente e poderia estender-se até o final da vida, mas de forma limitada. Os processos que contribuem no desenvolvimento do cérebro ao longo da vida compreendem desde eventos moleculares associados com a expressão gênica até o ambiente. Todos estes processos interagem em harmonia para suportar as séries de eventos que definem o desenvolvimento cerebral, e a perturbação em qualquer um desses processos pode alterar o curso do desenvolvimento do cérebro. Assim, o desenvolvimento do cérebro é descrito como um conjunto de processos dinâmicos e adaptativos que operam em cada ponto no desenvolvimento, fomentando o surgimento e diferenciação de novas estruturas e funções neurais (JT10). O conhecimento destes processos ao longo da vida é um dos objetivos da neurociência, pois proveem uma base crítica para o conhecimento das desordens neurológicas (PBS⁺12).

Nas seções seguintes serão apresentados estudos encontrados na literatura relacionados ao desenvolvimento estrutural e funcional além de como estão relacionados à conectividade estrutural e funcional.

3.1 Mudanças estruturais

Esta seção considera as mudanças estruturais no cérebro associadas com a idade, desde a infância até a fase adulta. Os estudos das mudanças estruturais apresentadas nesta seção são em sua maioria, estudos feitos utilizando Imagens de Ressonância Magnética (MRI, do inglês *Resonance Magnetic Imaging*) devido a sua alta sensibilidade ao contraste e uma boa resolução espacial, além de ser também um método não invasivo; o qual faz este método adequado para o estudos em crianças (CBT05).

As últimas semanas de gravidez e os primeiros meses após do nascimento são caracterizados pelo aumento do volume cortical e da área superficial. A velocidade deste processo se mantém até os dois anos. Após isto, este processo diminui sua velocidade mas continua até a adolescên-

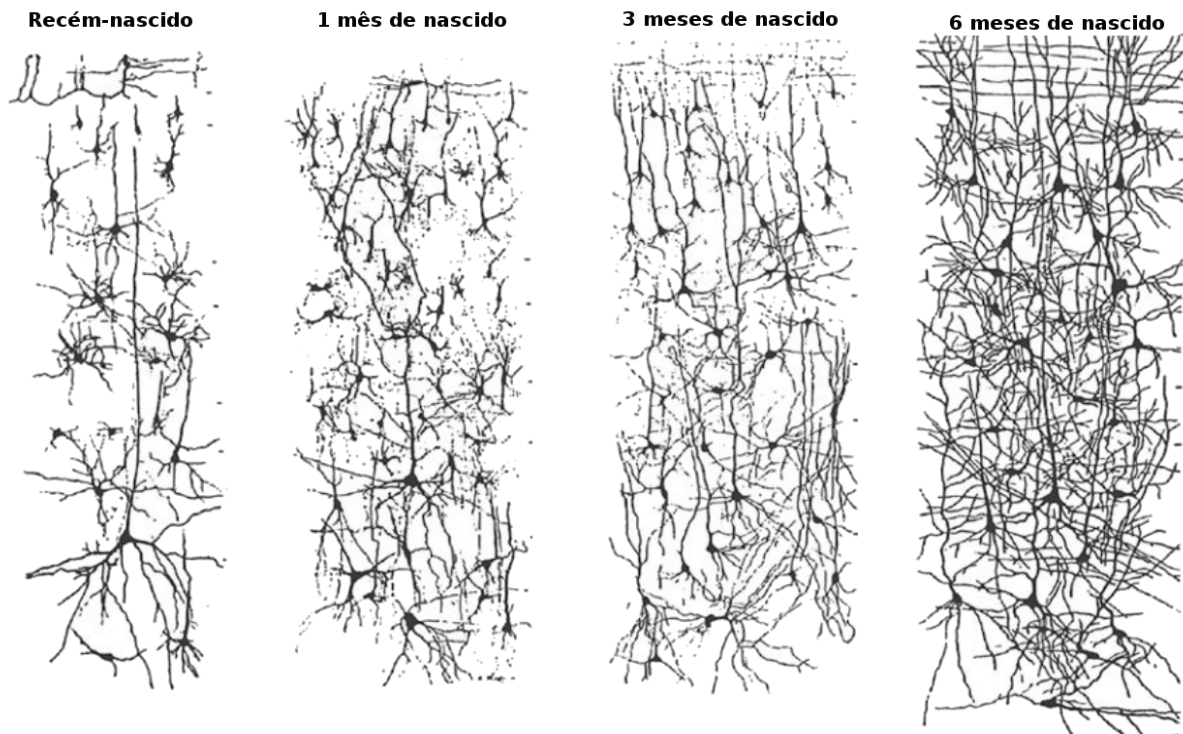


Figura 3.1: Figura da estrutura celular do córtex visual e o aumento das sinapses nos primeiros meses de vida. Figura adaptada de (JDH15).

cia. Durante os dois primeiros anos de vida acontecem grandes mudanças, pois neste período o cérebro aumenta até os 90% do tamanho do cérebro adulto. Este crescimento do cérebro é devido principalmente ao aumento da matéria cinza no cérebro pois no primeiro ano se aumenta ~ 160% e no segundo 18%. No entanto, esse incremento do volume cortical não é pela criação de novos neurônios, pois a maioria dos neurônios já estão presentes no sétimo mês de gravidez. O que faz que o volume cortical aumente é a criação de sinapses entre os neurônios (processo conhecido como sinaptogênese) 3.1. Este aumento do volume cortical não é uniforme em todo o cérebro pois algumas regiões alcançam o volume máximo mais rápido do que outras. Por exemplo o córtex visual alcança o volume máximo entre os 4 e 12 meses de idade, enquanto as regiões do córtex pré-frontal após o primeiro ano de vida.

O crescimento do volume cortical após os dois primeiros anos de vida é menor, aumentando até aproximadamente os 13 anos de idade. Após este período a velocidade diminui e só volta a aumentar nos primeiros anos da fase adulta, e por volta dos 35 anos o volume começa a diminuir (SPT⁺03; CBT05; JDH15). O desenvolvimento do volume cortical é diferente entre homens e mulheres desde a etapa pré-natal, pois os homens tem um maior volume cortical do que as mulheres em fetos da mesma idade; e esta diferença se faz maior na adolescência; pois os homens apresentam um volume cortical 10% maior do que as mulheres considerando o índice de massa corporal (BMI, do Inglês *Body Mass Index*) (DDL15).

A mudança do volume do cérebro com a idade é uma consequência de vários fatores, principalmente pelo aumento e diminuição da matéria cinza e branca. Estudos sobre o volume da matéria branca e cinza sugerem que: o volume da matéria cinza tem uma trajetória quadrática onde o córtex parietal amadurece antes do córtex frontal o qual alcança o seu valor máximo na adolescência; e o volume da matéria branca mostra um crescimento linear com a idade até os 45 e que após de essa idade começa a diminuir (GBJ⁺99; JT10; CBS05). Estas mudanças não se apresentam de maneira homogênea em todo o cérebro, pois acharam que o volume da matéria cinza das regiões dos córtices visuais, auditivos e límbicos apresentam mudanças mais rápidas e tem um padrão linear,

e que as regiões encarregadas das funções da linguagem são as últimas em apresentar mudanças significativas. As regiões da insula e o giro parietal superior mostram mudanças mais proeminentes do volume de matéria branca com a idade. Também foram identificadas diferenças sexuais na mudança do volume da matéria cinza e branca, onde o volume da matéria branca nos homens tem um maior crescimento do que das mulheres, enquanto o volume de matéria cinza nas mulheres alcança o valor máximo antes do que os homens (T.10; GBJ⁺⁹⁹). A diminuição da matéria cinza é ocasionada principalmente pela poda sináptica e as mudanças vasculares e/ou o encolhimento celular, enquanto o aumento da matéria branca é devido ao processo de mielinização dos axônios (GGL⁺⁰⁴; GBJ⁺⁹⁹; SPT⁺⁰³). Os genes também influenciam o volume de matéria cinza nas diferentes regiões do cérebro especialmente nas regiões do parietal-occipital e o temporal-insular. Entretanto, alguns estudos sugerem que na fase adulta e na velhice a taxa de mudança do volume de todo o cérebro é similar nos homens e mulheres (Ank92; CEG00; DDL15), e que apesar da diminuição da matéria branca e cinza no cérebro a densidade de células neurais permanece constante com a idade (TKI15).

A espessura cortical dos recém-nascidos é de 1.3mm. Este aumenta com a idade que vão desde 1.5 mm nas regiões occipitais até 5.5 mm no córtex frontal dorso medial. Semelhante ao volume cortical, o crescimento da espessura cortical chega no seu limite na adolescência e começa a decrescer de maneira assíncrona nas regiões do cérebro. É na adolescência a diferença da espessura cortical entre homens e mulheres aumenta, pois no caso das regiões frontais se desenvolvem mais rápido nas mulheres do que nos homens, provavelmente devido a puberdade na mulher ser antes dos homens. A mudança da espessura cortical nesta etapa é diferente nas regiões do cérebro o qual é modulado pelo nível de receptores de andrógeno tanto nos homens quanto nas mulheres, assim as regiões parietais, diferentemente das regiões frontais, se desenvolvem mais rápido nos homens. Estas diferenças sugerem possíveis relacionamentos com as diferenças cognitivas, não obstante, não existe nenhum estudo que mostre uma correlação entre esses dois (DDL15). Cabe ressaltar que a espessura cortical é uma medida que está fortemente correlacionada com o volume de matéria cinza (GGL⁺⁰⁴).

Estudos mostram que o cérebro apresenta uma assimetria no desenvolvimento dos hemisférios, o qual sugere que já existe uma lateralização funcional desde antes do nascimento. As primeiras pesquisas sobre esta assimetria foram feitas utilizando estudos *post mortem* os quais mostravam que o hemisfério direito apresenta maior complexidade dos giros do que o hemisfério esquerdo, enquanto o giro de Heschl's e o plano temporal são os mais desenvolvidos (DDL15).

No cérebro também são observadas mudanças na conectividade estrutural. Elas são estudadas utilizando Imagens de Difusão de Tensor (DTI, do inglês *Diffusion Tensor Imaging*) e Imagens de Difusão Angular de Alta Resolução (HARDI, do inglês *High Angular Resolution Diffusion Imaging*), já que estes dois métodos permitem visualizar os caminhos dos axônios *in vivo* modelando a difusão da água ao longo dos axônios. Do conjunto de tensores de difusão em cada ponto do cérebro, podemos determinar os vetores ao longo dos quais a difusão é máxima e alinhá-los para criar fibras. Quando o DTI ou HARDI são aplicados em todo o cérebro podem-se obter todas as fibras do cérebro, a partir das quais se constroem redes de conectividade estrutural que descrevem as conexões anatômicas, capturando aspectos da sinalização neural ou a comunicação ao longo das fibras (O.14). Uma vez criada a rede de conectividade estrutural, pode-se aplicar a teoria dos grafos para entender melhor as propriedades globais das redes anatômicas (O.11). No trabalho de (EJNP12) utilizando imagens HARDI em 467 indivíduos com idades entre 12 e 30 anos, eles encontraram que as conexões de curto alcance são podadas a favor de conexões de longo alcance o qual sugere que as redes tornam-se mais integradas e segregadas. (MMJ99) estudaram a difusão da água no cérebro de crianças, o coeficiente de difusão aparente (ADC do inglês *Aparent Diffusion Coefficient*) e a anisotropia aparente (AA do inglês *Aparent Anisotropy*) os quais estão fortemente ligados à maturação estrutural e a compacidade das fibras da matéria branca (HJ06). Em outros

trabalhos encontraram que o corpo caloso tem maior quantidade de conexões nos adultos, determinaram também que a conexão estrutural não só é definido biologicamente pelo ADN, mas também o ambiente, a alimentação, e educação também alteram essas conexões e que o nível de ferro na alimentação pode afetar na criação das conexões ou no desenvolvimento lento do cérebro (EP13).

3.2 Mudanças funcionais

O cérebro humano é composto por um conjunto de regiões altamente especializadas onde cada uma realiza um aspecto específico da cognição humana e participa de uma ampla variedade de processos cognitivos (FDC⁺07). A estrutura destas regiões muda dramaticamente ao longo da vida com consequências importantes no desenvolvimento cognitivo. As mudanças no número, disposição das regiões estruturais e conexões no cérebro influenciam a efetividade e os padrões espaciais de suas interações dinâmicas em todas as escalas. É importante enfatizar que o crescimento do cérebro e a plasticidade são os maiores responsáveis para o desenvolvimento cognitivo. No caso dos humanos, também são importantes o ambiente social, o crescimento físico do corpo e o aparelho locomotor, a contínua auto-referência e a interação com o mundo ao redor. Assim, o desenvolvimento não só depende dos processos biológicos que inexoravelmente levam até um cérebro “maduro”, senão que também envolve interações dinâmicas entre o cérebro, o corpo, e o ambiente que guiam a expressão e a contínua modificação da estrutura do cérebro e do comportamento. Por exemplo, os mecanismos neurais de aprendizado e plasticidade permitem ao cérebro em desenvolvimento extrair regularidades estatísticas no mundo ao redor. Estas regularidades são em parte resultados das interações sensorimotoras entre o organismo, o ambiente social e mundo físico ao redor (JT10; PJS10).

3.2.1 Conectividade Funcional

Para o melhor entendimento do desenvolvimento do cérebro humano são utilizadas observações das atividades neurais espontâneas, essas atividades se apresentam no cérebro na ausência de entradas sensoriais e produção de movimentação. Os primeiros trabalhos que utilizavam o fMRI geralmente assumiam que essa atividade era ocasionada por flutuações aleatórias, portanto essas flutuações eram removidas. No entanto, subsequentes estudos mostraram que essas flutuações não eram aleatórias e tinham padrões temporais. Em (BZYHH95) mostraram que existe correlação temporal entre as flutuações espontâneas do córtex sensorimotor com as regiões dos dois hemisférios durante o repouso, depois também demonstraram a existência de correlação entre os sinais espontâneos entre regiões dos córtices motor e de associação. Assim, o termo conectividade funcional foi criado para referir-se à associação temporal entre elementos neurais, a qual pode ser estimada usando correlação, covariância, informação mútua, etc. entre dois sinais BOLD (RBJ07). Assim, duas regiões têm conectividade funcional se o incremento da atividade neural de uma região está associada acima do nível do acaso com a atividade na outra. Mas o fato dessas regiões apresentar alta correlação não implica que exista uma comunicação direta entre elas, pois sua co-variação poderia ser devido às entradas comuns de outra fonte (MM15). A conectividade funcional pode ser modificada com um treinamento perceptual e motor, e pode prever as diferenças individuais no comportamento (JvBCR13). Além disso, mostraram a viabilidade de examinar a conectividade funcional entre as regiões do cérebro como o nível de co-ativação das series temporais que foram obtidos durante o repouso (O.14; RBJ07; DA15)

3.2.2 Redes de estado de repouso

Uma grande parte dos trabalhos que estudam a natureza das mudanças funcionais do cérebro humano no desenvolvimento estão baseados nos resultados do estudo das Imagens de Ressonância Magnética Funcional (fMRI). Examinando as diferenças do perfil de ativação no fMRI de uma região cerebral particular entre crianças, adolescentes, e adultos; pode-se obter a associação dessa região com a idade. No entanto, esta abordagem não leva em consideração a conectividade do cérebro como um todo (PJS10).

O Imageamento por Ressonância Magnética Funcional em estado de repouso (rsfMRI do inglês *resting state fMRI*) é um método cada vez mais utilizado, já que mede as flutuações espontâneas de amplitude alta e baixa frequência (< 0.1 Hz) do sinal BOLD enquanto o indivíduo está em repouso, permitindo assim o estudo dos padrões de atividades neurais espontâneas no cérebro inteiro. Estes padrões de atividades neurais espontâneas formam múltiplas redes dissociáveis também conhecidas como as redes de estado de repouso (RSN do Inglês *Resting state Networks*), as quais estão relacionadas a um conjunto específico de operações cerebrais, que são utilizadas para estudos sobre o desenvolvimento do cérebro (P.05; ME10; D.A99; M.E11). Existem uma variedade de métodos para obter as RSN. Em geral, esses métodos calculam a conectividade funcional entre todas as ROIs, e após disso encontram uma divisão das regiões do cérebro de acordo a sua conectividade funcional, assim duas regiões que pertencem a uma mesma RSN tem uma conectividade funcional alta, enquanto a conectividade funcional entre duas regiões de diferentes RSNs tem uma conectividade funcional baixa (PJS10; vdHMH10; LLD11; O.14). Numerosos estudos têm documentado as RSN, começando pelo córtex somatomotor (BZYHH95), que agora inclui parte do córtex visual, córtex auditivo, a rede de modo padrão (DNM do inglês *Default Mode Network*) (GMR09), e várias outras RSN (DRB⁺06). Para a obtenção e análise dessas redes foram desenvolvidos uma variedade de métodos como: os métodos baseados em sementes (BZYHH95), análise de componentes independentes (ICA do inglês *Independent Component Analysis*) (DRB⁺06), e análise de redes (CRH12; PJS10); os quais serão apresentados a seguir.

Métodos Baseados em Sementes

Uma abordagem simples para realizar a análise da conectividade funcional, independentemente de como foram obtidos os dados fMRI, é realizar a correlação de um conjunto de regiões de interesse (sementes) com outras regiões do cérebro (EM15; PJS10). Em particular, este tipo de análise é feita seguindo os seguintes passos:

- **Extrair o sinal de interesse da região semente:** Este passo consiste em identificar os eventos neurofisiológicos da região da qual se quer examinar sua conectividade. Isso é geralmente feito utilizando o primeiro autovetor da sua série temporal.
- **Calcular a correlação do sinal representativo da semente com o sinal de todos os voxels do cérebro**

Este método revela as localizações espaciais onde a atividade rsfMRI são semelhantes à semente. O primeiro trabalho em reportar correlações altas entre os *voxels* do córtex visual utilizando o método de correlações baseados em sementes (LMS98), o qual foi replicado várias vezes mesmo incluindo crianças com menos do que 30 dias após seu nascimento. Também acharam correlações altas nos córtex auditivo, e somatomotor; e que as correlações dos *voxels* que pertencem ao córtex somatomotor crescem mais rápido do que o córtex visual em crianças com 2 semanas, 1 ano, e dois anos de vida (PJS10). Evitar que crianças de essas idades se movimentem é difícil, assim, para evitar esse problema durante a tomada de dados, resolveram pegar dados das crianças quando estavam dormidas, sedadas, ou até em repouso. Mesmo que os dados tenham

sido pegados em diferentes estados os resultados obtidos foram congruentes entre todos os indivíduos. O método baseado em sementes é análogo ao método que é utilizado para analisar dados fMRI baseados em tarefas (método amplamente utilizado para estudos de neurodesenvolvimento), já que também serve para localizar regiões que apresentam diferenças significativas na conectividade funcional com as regiões de semente. Portanto, este método pode ser utilizado tanto em dados de rsfMRI quanto em dados fMRI baseado em tarefas. Pode ser usado em dados rsfMRI para identificar regiões que mostram diferenças significativas entre indivíduos de controle e indivíduos com alguma doença; o que significa que podem ser obtidas regiões cujas interações são afetadas pela doença. Enquanto seu uso em dados fMRI baseado em tarefas pode ser comparado como mudam os padrões de ativação no cérebro entre indivíduos que realizam diferentes tarefas (EM15). Entre as principais desvantagens de este método temos que: (i) os resultados da análise dependem da localização das sementes, (ii) a análise pode tornar-se complicada quando o número de sementes se incrementa, e (iii) é altamente sensível a fatores de confusão, em especial aos gerados pela movimentação da cabeça (EM15).

Análise de Componentes Independentes (ICA)

Na anterior seção foi apresentado um método com o qual se realiza a análise da conectividade funcional do cérebro utilizando regiões de interesse (sementes). No entanto, esse método precisa do julgamento do pesquisador sobre quais regiões pertencem a uma RSN e quais covariáveis devem se considerar, introduzindo assim uma possível subjetividade. Para evitar esses problemas o ICA é uma alternativa, pois é um método *data driven* (EM15; PJS10). A ideia principal por detrás do ICA é separar o sinal BOLD de um conjunto de regiões num conjunto de séries temporais independentes e associadas mutuamente; assim, este método identifica um conjunto de *voxels* cujas séries temporais co-flutuam ao longo do tempo ou que são coativados entre experimentos. Se são utilizados todos os *voxels* do cérebro e este método é aplicado, então são obtidas várias componentes as quais representam uma RSN, as quais são estimadas manualmente dos dados que resulta numa definição não viesada das RSN. Além disso, os componentes obtidos com o ICA podem ser utilizados para estudar múltiplos sistemas funcionais de uma vez só, e também para observar as diferenças individuais de conectividade funcional de cada sistema (PJS10; DRB⁺06).

O primeiro trabalho que utilizou o ICA para estudar o cérebro, foi realizado por (FSH⁺07). Nesse trabalho, foram analisados 12 crianças com idades entre 24 – 28 semanas e encontraram 5 RSN 3.2. Essas RSN encontradas ligam predominantemente as áreas homólogas nos dois hemisférios e que a Rede de Modo Padrão (DMN do Inglês *Default Network Mode*), a qual é um conjunto de regiões que se desativam durante a execução de tarefas cognitivas nos adultos (SPG08; PBC⁺08), nas crianças apresenta ligações entre suas componentes anteriores e posteriores enquanto nos adultos estas ligações não foram achadas. O qual segundo (FSH⁺07) sugere que a ausência de uma DMN totalmente conectada poderia refletir a imaturidade da organização estrutural do cérebro das crianças. Após do trabalho do (FSH⁺07) outros pesquisadores direcionaram seus estudos ao estado do DMN com a idade, onde mostraram que o DMN não está completa nas crianças novas e que apresenta maior quantidade de conexões aproximadamente no primeiro ano de vida (PJS10; O.11).

Apesar de ser um método mais completo do que os métodos que precisam de regiões definidas *a priori*, ser robusto para dados de diferentes tipos de experimentos (i.e, fMRI baseado em tarefas, rsfMRI) e dados obtidos de diferentes indivíduos. O ICA apresenta as seguintes desvantagens: (1) não pode ser utilizado num conjunto de regiões de teste (semente) para examinar sua conectividade funcional; e (2) a difícil interpretação dos valores obtidos para cada *voxel*, pois cada *voxel* tem um valor por componente que indica o quão integrados estão na componente.

Apesar dessas limitações, o ICA é amplamente utilizado na análise de dados. Foi com o

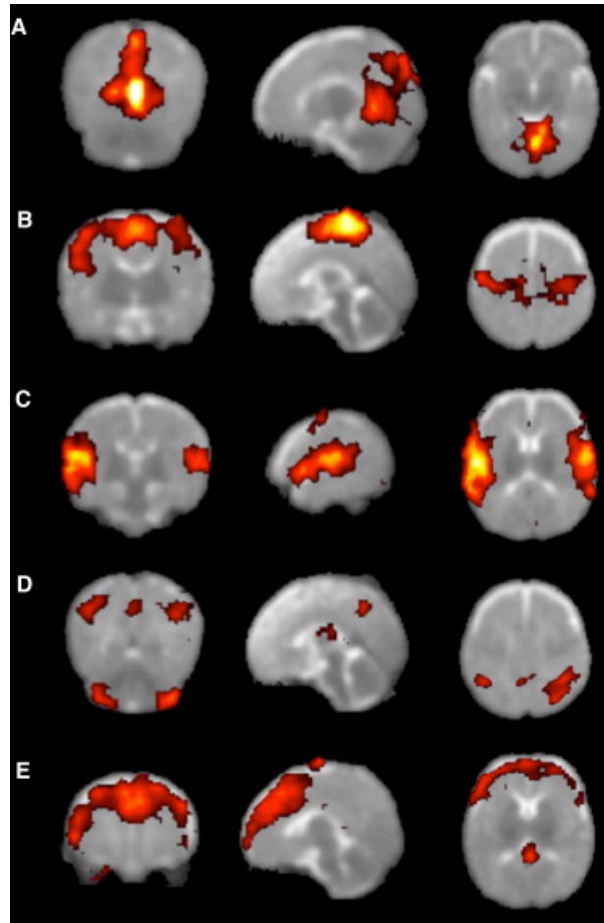


Figura 3.2: Cada linha mostra os cortes coronais, sagitais, e axiais dos RSN. (A) Córtex visual primário. (B) Córtex somatosensor e motor. (C) Córtex parietal temporal/inferior. (D) Regiões do córtex parietal e regiões laterais do cerebelo. (E) Regiões médias e laterais do córtex pré-frontal. Figura obtida de (FSH⁺07)

uso e este método que mostraram evidências da existência de diferentes componentes (i.e RSN) em imagens rsfMRI, além disso, sua semelhança com os estudos fMRI baseados em tarefas fez possível a noção de que qualquer sistema funcional do cérebro pode ser obtido com este método. No entanto, apesar de que as componentes sejam similares espacialmente com regiões que foram associadas a uma função cognitiva com o fMRI baseado em tarefas não implica que essas RSN estejam associadas com essas funções cognitivas (EM15; PJS10).

Teoria de Grafos

Os métodos relatados até agora foram para mostrar características espaciais de sinais rsfMRI correlacionadas. Não obstante, esses métodos apresentam limitações como: (i) se está-se interessado que múltiplas regiões sejam destacadas utilizando os mapas baseados em sementes, se precisa gerar um novo mapa para cada região adicional, e comparar mais do que um mapa de uma vez torna-se difícil; (ii) se estamos interessados nas interações dentre ou entre componentes, tem que se adotar outra técnica para examinar essas interações, pois a análise de componentes só indicam quanta variância está compartilhada entre as ROIs dentro dos componentes (PJS10; EM15). Dadas essas limitações (PJS10) apresentou um novo paradigma para estudar o cérebro: A teoria dos grafos.

A teoria dos grafos é um ramo da matemática desenvolvido para descrever e analisar grafos (redes). Os grafos são objetos matemáticos compostos por dois conjuntos: um conjunto de vértices e um conjunto de arestas. A estrutura do grafo pode ser convenientemente organizada por uma

matriz de adjacência, na qual a linha i e coluna j dessa matriz vale 1 caso haja aresta ligando o vértice i ao vértice j , e 0 caso contrário (PJS10). Assim, podemos modelar o cérebro como um grafo, onde o conjunto de vértices são as regiões cerebrais de interesse e o conjunto de arestas são as conexões ou correlações entre duas regiões. Assim, o grafo de conectividade funcional do cérebro pode ser representado como uma matriz de adjacência com peso; onde as arestas dessa rede têm valores do coeficiente de correlação. Alguns trabalhos discretizam estes valores de correlação utilizando um limiar enquanto outros trabalhos trabalham sem fazer essa discretização (PJS10; O.11; EJNP12; HK13).

A teoria de grafos para estudar o desenvolvimento do cérebro foi apresentada numa série de relatórios por (FDC⁺07) em 2007. O primeiro trabalho em utilizar a teoria de grafos foi feito por (DFM⁺07) o qual utilizou 39 ROIs de controle de tarefas os quais foram obtidos num trabalho anterior (DVP⁺06). Essas ROIs foram definidas em adultos jovens; e mostraram que neste grafo existiam 2 componentes, as quais não tinham ligação nenhuma entre elas mesmo utilizando diferentes valores de limiar. Esses dois componentes foram nomeados, baseados na localização das ROIs que compõem cada uma das componentes como as redes de controle de tarefas fronto-parietal (FP) e cíngulo-opercular (CO). Também encontraram que as ROIs da rede FP se ativavam mais transitoriamente pois ligavam as propriedades funcionais das ROIs como nós dentro das redes de estado de repouso. Esta rede também é conhecida como a Rede de Modo Padrão (DMN do Inglês *Default Mode Network*); enquanto as ROIs da rede CO mostravam atividade contínua durante as tarefas. Estas redes são importantes pois estão relacionadas com o rendimento das pessoas nas tarefas, e além de existir diferenças comportamentais entre os adultos e crianças na hora de fazer uma tarefa também existem diferenças na atividade das regiões de controle de tarefas. Para mostrar como a conectividade funcional dessas regiões mudam com o desenvolvimento, (FDS07) examinou a conectividade funcional das 39 ROIs obtidas das regiões de controle de tarefas como grafos obtidos das imagens de rsfMRI. Cada ROI foi modelada como uma esfera de 10mm de diâmetro, enquanto os pesos das arestas foram definidas como o valor da correlação de Pearson entre as séries temporais de duas ROIs. Construíram 3 redes, uma foi construída utilizando indivíduos com idades entre 7 – 9 anos, outra com idades entre 10 – 15 anos, e finalmente uma terceira com idades entre 21 – 31 anos (FDS07; PJS10; CRH12). Na figura 3.3 pode-se observar que no caso das crianças com idades entre 7 – 9 anos (painel A) o grafo só tem uma componente, no qual o nó dorso-anterior do córtex cíngulado/córtex frontal superior médio (dAAC/msFC) forma parte dos nós do componente Fronto-parietal. Além disso, os nós do córtex pré-frontal anterior bilateral (aPFC) estão entre as componentes FP e CO. Nos adolescentes entre 10 – 15 anos (painel B) a sua rede forma 2 componentes, mas o nó dAAC/msFP ainda pertence ao componente FP. Finalmente, nos adultos com idade entre 21 – 31 anos (painel C), o grafo está dividido em duas componentes; o qual implica que a rede se reorganizou com o desenvolvimento, e fez que os nós do cíngulo anterior e aPFC tenham menor associação com outros nós do frontal e estejam mais associados com os nós da insula e do tálamo. Assim, os autores mostraram que as conexões de curto alcance são mais fortes nas crianças e que se enfraquecem no desenvolvimento (FDS07; FCP⁺09).

Num estudo subsequente, (FCP⁺09) examinou o desenvolvimento de uma rede composta de 34 ROIs que tinham sido definidos em outros trabalhos (DVP⁺06; FDS07). Os nós, arestas e indivíduos foram definidos como no trabalho (FDC⁺07). A figura 3.4 mostra a estrutura dos grafos para cada faixa de idade. Neste gráfico, pode-se perceber dois padrões: o primeiro que as regiões que estão anatomicamente próximas têm maior correlação nas crianças, a qual diminui com o desenvolvimento; como segundo padrão pode-se observar que as regiões que tem funcionalidades a ver nos adultos estão mais associados do que nas crianças. Pode ser observado também que os padrões das arestas mudam com a idade, e que estes estão aglutinados em algumas regiões onde os nós estão densamente conectados, o qual indica que existe uma estrutura de comunidade. A continuação será apresentada de maneira sucinta os métodos para medir a modularidade de uma

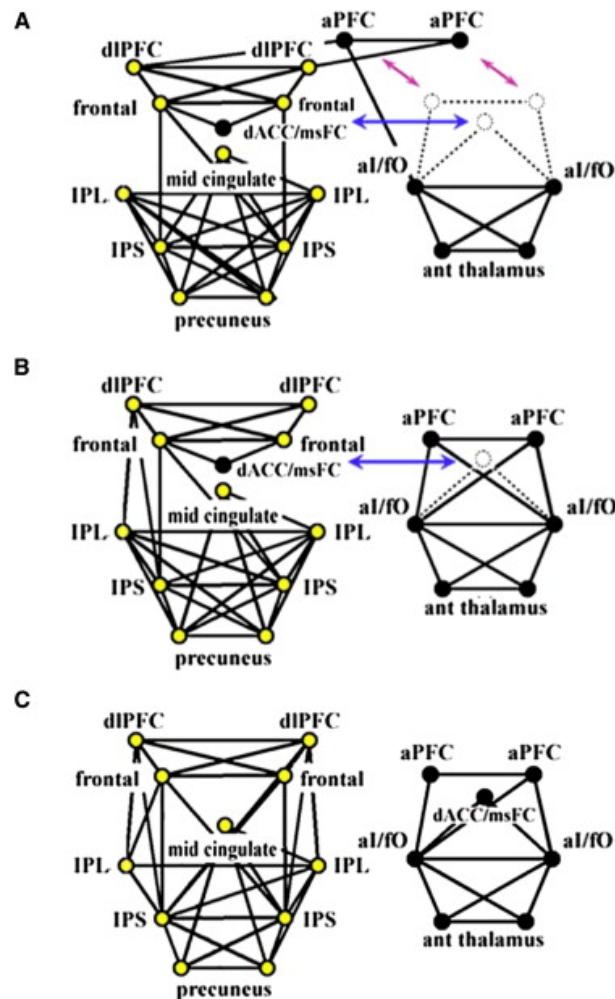


Figura 3.3: Os nós da rede fronto-parietal (FP) estão coloridas com amarelo, e os nós da rede cingulo-opercular (CO) estão coloridos com preto. Os gráficos foram plotados num esquema pseudo-anatômico utilizando o 10% do total de arestas. (A) Estrutura do grafo de conectividade das crianças 7 – 9 anos. (B) Estrutura do grafo de conectividade dos adolescentes 10 – 15 anos. (C) Estrutura do grafo de conectividade dos adultos 21 – 31 anos. Note que as associações do aPFC e dACC msFC. Figura adaptada de (FDC⁺07)

rede. Além disso, serão apresentadas outras medidas para quantificar outras características do grafo.

Para quantificar a estrutura global das redes são utilizadas métricas da teoria dos grafos como a modularidade, eficiência, o coeficiente de agrupamento, e o comprimento do caminho característico. A modularidade mede a força da divisão de uma rede em módulos. Uma rede com alta modularidade tem conexões densas entre os vértices de um mesmo módulo (sob rede) e esparsas entre diferentes módulos. A eficiência mede quão eficientemente a rede troca informações. O coeficiente de agrupamento mede o grau que os vértices de uma rede tendem a agrupar-se. Finalmente, o comprimento do caminho característico que é o comprimento médio dos caminhos mais curtos da rede, mede quão facilmente a informação pode ser trocada entre dois nós distantes. Na teoria de grafos também existem medidas para quantificar propriedades dos vértices de forma individual. O coeficiente de clusterização é uma dessas propriedades, esse coeficiente mede o quão integrado está o vértice em relação ao seu módulo.

Outro conjunto de medidas de muita utilidade são as medidas de centralidade de um vértice, que indica em que medida um vértice desempenha um papel central ou importante dentro de uma rede (PJS10; EJNP12). Existem uma variedade de métodos para obter estas medidas, a mais simples é a centralidade de grau a qual é definida pelo número de vizinhos que o nó influencia

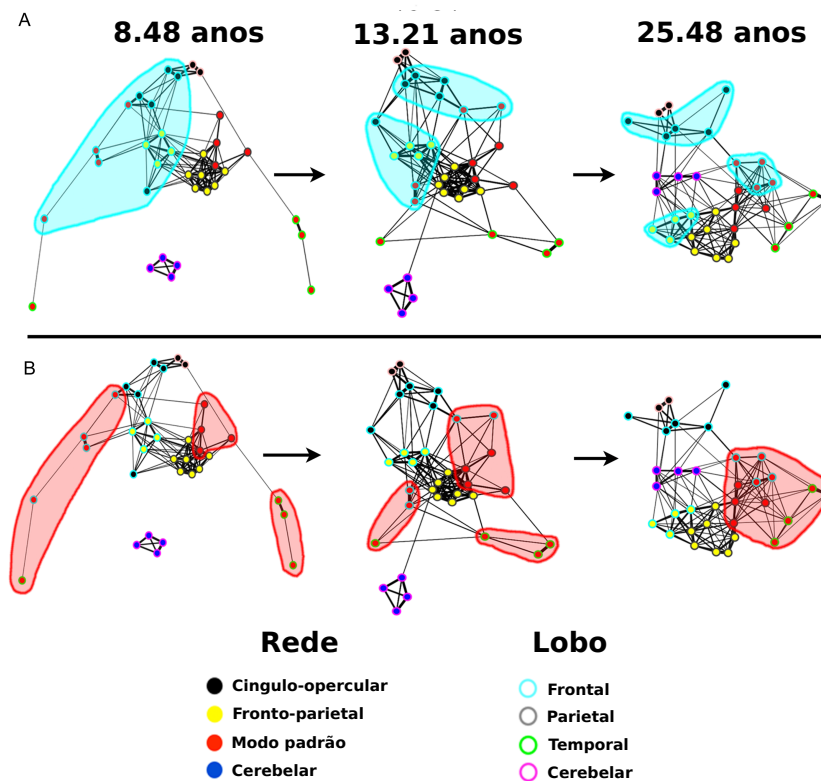


Figura 3.4: Cada painel mostra o desenvolvimento da conectividade funcional das ROIs com o desenvolvimento. O painel (A) mostra um cluster (azul claro) coerente de regiões frontais cujos membros são anatomicamente próximos e funcionalmente relacionados (segregação). Os membros deste cluster se dispersam com o desenvolvimento. As ROIs que pertencem a rede de modo padrão (vermelho), os quais estão fortemente relacionados nos adultos (integração), estão mais dispersos e desligados nas crianças. Portanto, o desenvolvimento das redes funcionais do cérebro progredem de uma organização mais local ou segregada a uma organização mais distribuída ou integrada. Figura adaptada de (FCP⁺09).

diretamente. O método anteriormente descrito usualmente está altamente correlacionado com outra medida de centralidade conhecida como intermediação, a qual é definida como a fração de todos os caminhos mínimos através da rede em que o nó participa. A centralidade de proximidade por sua vez leva em conta o quão rápido um dado nó pode-se comunicar com os outros. Outras medidas de centralidade muito utilizadas na literatura são: centralidade espectral e suas variantes, de acordo a essas medidas um nó tem alta centralidade se está conectado a outros nós com alta centralidade (PJS10). A continuação apresentaremos os trabalhos que aplicaram estas medidas para quantificar a estrutura global da rede do cérebro e as propriedades dos vértices em forma individual e sua mudança com a idade.

Estudos que utilizaram estas métricas para a análise global da rede de conectividade funcional do cérebro encontraram que o cérebro tem uma alta modularidade ao longo da vida, e que na infância as regiões do cérebro que estão anatomicamente mais próximas têm correlações mais fortes, as quais diminuem com o avançar da idade. Nos adultos, as regiões do cérebro que estão funcionalmente relacionadas têm correlações mais fortes, formando assim módulos funcionalmente definidos. Outra propriedade que encontraram é que o cérebro tem estrutura “small-world”, o que significa que o cérebro tem alto coeficiente de clusterização e comprimentos de caminho baixos, o qual faz com que a rede seja altamente eficiente na escala global e local. A estrutura “small-world” da rede de conectividade funcional do cérebro não muda com a idade, apesar das grandes diferenças da estrutura das comunidades em crianças, adolescentes e adultos (EJNP12; O.11).

As medidas de centralidade foram utilizadas para identificar vértices altamente conectados, co-

nhedidos como *hubs* na rede de conectividade funcional do cérebro. Alguns estudos sugerem que os *hubs* funcionais emergem relativamente cedo durante o desenvolvimento cerebral (já estão presentes nos bebês e nas crianças); e que da infância até a adolescência, as regiões que compõem os *hubs* se mantêm estáveis mas suas interações com outras partes da rede sofrem alterações durante o desenvolvimento (vdHMO13; PBS⁺12).

Capítulo 4

Materiais e métodos

4.1 Clusterização

A clusterização é o processo de classificar itens em grupos ou *clusters* que tenham similaridade de acordo com alguma medida de distância. Além disso, pode ser utilizada para impor uma estrutura num conjunto de dados mais ou menos homogêneos que tem que ser dividido de uma forma equitativa.

A clusterização é diferente da análise discriminativa, pois enquanto a clusterização estabelece os grupos a análise discriminativa atribui os itens a grupos definidos antecipadamente. Os métodos de classificação podem ser supervisionados ou não-supervisionados. Na classificação não-supervisionada conhecida também como agrupamento, clusterização (do inglês *clustering*) ou análise exploratória de dados, os dados não estão rotulados e tem como objetivo dividir um conjunto finito de itens em um conjunto finito e discreto de grupos “naturais”. A razão para a existência da classificação não-supervisionada vem da necessidade de explorar as naturezas desconhecidas dos dados que são analisados com pouca ou nenhuma informação prévia. Por exemplo na medicina, para entender e tratar uma doença, esta deve ser classificada. Em geral a classificação terá dois alvos, o primeiro será a predição para separar as doenças com diferentes tratamentos e o segundo fornecerá as causas de diferentes tipos de doenças. Esses são os objetivos que o médico tem em mente quando realiza um diagnóstico (LJ09).

No princípio, a clusterização era feita de uma maneira subjetiva, baseando-se na percepção e o julgamento do pesquisador; isso é uma tarefa fácil se os itens têm até 3 características, pois poderíamos plotar um gráfico e assim escolher o melhor número de *clusters*. Contudo, clusterizar itens com mais de 3 características é muito mais difícil, mas com a chegada dos computadores foram desenvolvidos vários procedimentos de classificação automática. Esses métodos são cada vez mais utilizados para resumir os enormes conjuntos de dados existentes agora e a exploração de esses conjuntos de dados utilizando o análise de *clusters* e outras técnicas de análise multivariada que é conhecido como **mineração de dados** (LJ09).

As duas abordagens mais utilizadas para clusterizar são a aglomerativa e a com base em protótipo. Na clusterização aglomerativa, cada dado é colocado inicialmente em um *cluster*. Após isso, os *clusters* mais similares são mesclados de acordo com alguma medida. Este processo é feito iterativamente até que o número desejado de grupos seja atingido ou algum critério sobre a distribuição ou probabilidade seja excedido. Enquanto a clusterização com base em protótipo, o número final de grupos é definido *a priori*, cada protótipo é inicializado para alguma posição e os dados são atribuídos aos protótipos de acordo com a semelhança entre eles. Logo, os protótipos são ajustados para minimizar a distorção dos dados; tanto este processo de ajuste quanto o processo de atribuição são repetidos até que não haja mudanças no resultado (LJ09).

4.1.1 O que é um *cluster*?

É difícil encontrar uma definição formal do que é um *cluster*. No geral, as definições encontradas na literatura não sugerem um modelo, o que faz com que *clusters* sejam definidos a posteriori nos dados.

A seguir serão apresentados algumas definições para *cluster* que são comumente utilizadas na literatura:

1. **Definição de *cluster* bem separado:** Um *cluster* é um conjunto de itens tal que qualquer ponto num *cluster* é mais próximo (ou similar) aos outros pontos do seu *cluster* do que qualquer ponto que não pertença a seu *cluster*. As vezes é utilizado um limiar para especificar que todos os pontos devem ser o suficientemente similares um ao outro.
2. **Definição de um *cluster* baseado num centro:** Um *cluster* é um conjunto de itens tal que um item num *cluster* é mais similar ao "centro" de um *cluster* do que a qualquer outro *cluster*. O centro de um *cluster* é geralmente um centroide.
3. **Definição de um *cluster* contíguo:** Um *cluster* é um conjunto de pontos tal que um ponto num *cluster* está mais próximo a um ou mais pontos no *cluster* do que a um ponto que não está no *cluster*.
4. **Definição baseada em densidade:** Um *cluster* é uma região densa de pontos, que está separado por regiões de baixa densidade, de outras regiões de alta densidade. Esta definição é geralmente utilizada quando os *clusters* são irregulares ou entrelaçados.
5. **Definição de *cluster* baseado em similaridade:** Um *cluster* é um conjunto de itens que são similares, e os itens que estão em outros *clusters* não são similares.

Portanto, a definição de *cluster* depende da natureza dos dados e os resultados esperados.

4.1.2 Métodos de clusterização

Existem pelo menos dois tipos de algoritmos de clusterização, chamados de métodos de particionamento e métodos hierárquicos. Na literatura podem-se encontrar uma grande quantidade de algoritmos de ambos tipos.

Os métodos baseados em particionamento constroem k *clusters* que satisfazem os seguintes critérios:

1. Cada grupo contém pelo menos um item.
2. Cada item deve pertencer a exatamente um *cluster*.

Os métodos de particionamento são muito populares pois são simples e fáceis de utilizar em relação a outros algoritmos de agrupamento. Esses algoritmos têm como alvo descobrir os *clusters* presentes nos dados mediante a otimização de uma função objetivo, melhorando a partição de forma iterativa. Também são conhecidos como algoritmos baseados em protótipos, pois requerem que o usuário defina certos parâmetros para selecionar os pontos protótipos os quais representam um *cluster*. O ponto protótipo para dados com atributos contínuos, geralmente é o centroide, ou seja, a média de todos os pontos que pertencem a um *cluster*.

Os métodos hierárquicos não só constroem uma partição com k *clusters*, também lidam com todos os valores de k . A partição com $k = 1$ (todos os itens no mesmo *cluster*) é parte da saída, e também a situação $k = n$ (cada item forma um grupo separado). Entre os valores de $k = 2, \dots, n - 1$ estão cobertos numa transição gradual: a única diferença entre $k = r$ e $k = r + 1$ é que

um dos *clusters* quando $k = r$ é dividido para obter $r + 1$ *clusters*. Existem dois tipos de algoritmos hierárquicos: o aglomerativo e divisório. O método aglomerativo começa com todos os itens separados, e em cada iteração, dois *clusters* são aglomerados até que só fique um *cluster*. O método divisório começa quando todos os itens estão juntos (num único *cluster*) e em cada iteração um *cluster* é dividido até que se obtenha n *clusters*. Poderia-se pensar que os métodos baseados em particionamento não servem mais, já que com os métodos hierárquicos obtemos todos os valores de k numa só execução. Entretanto, isto não é verdade já que os *clusters* formados “ao longo do caminho” não necessariamente são bons. Na verdade, um método baseado em particionamento tenta obter a melhor clusterização com k *clusters*, o qual não é o objetivo dos métodos hierárquicos. Além disso, os métodos hierárquicos sofrem do defeito de nunca poder reparar o que foi feito nos passos anteriores. Por outro lado, os métodos hierárquicos não competem com os métodos baseados em particionamento já que não tem o mesmo objetivo, eles tentam descrever os dados de forma totalmente diferente (LP90).

O algoritmo de clusterização utilizado neste trabalho foi um método baseado em particionamento pois queremos obter a “melhor” clusterização com k *clusters* que estão presentes na rede de conectividade funcional do cérebro. Onde as ROIs q que pertencem ao mesmo *cluster* tenham baixa dissimilaridade entre eles, e alta dissimilaridade se fossem de diferentes *clusters*. Nas seguintes seções são apresentados três algoritmos de clusterização bem conhecidos: k-médias, k-medoides e a clusterização espectral.

k-Médias

O k-médias (do inglês *k-means*) é um dos algoritmos de agrupamento mais conhecidos. O k-médias procura uma partição dos dados de tal forma que minimiza a soma do erro quadrático usando um procedimento de otimização iterativo (algoritmo guloso) (LJ09).

O procedimento básico do k-médias inicia-se escolhendo k centroides iniciais de forma arbitrária, os quais são usualmente a média dos pontos que pertencem a um *cluster*, onde k é o número de *clusters* definido pelo usuário. Posteriormente, cada item é atribuído ao centroide mais próximo, sendo que cada conjunto de itens atribuídos a um centroide é um *cluster*. O centroide de cada *cluster* é atualizado com base nos itens atribuídos para o *cluster*. Este processo é repetido até que nenhum item mude de *cluster*.

O k-médias é definido formalmente pelo seguinte algoritmo:

K-médias Algoritmo básico do k-médias

1. Selecione k pontos como centroides iniciais.
2. Forme k *clusters* atribuindo cada ponto ao centroide mais próximo.
3. Re-calcule o centroide de cada grupo.
4. repita os passos 2 e 3 até que os centroides não mudem.

Por se tratar de um algoritmo guloso, o k-médias não garante a convergência para um ótimo global. Uma solução comumente adotada consiste em executar o k-médias diversas vezes e selecionar a estrutura de clusterização que produz o melhor particionamento dado um certo critério. Uma das desvantagens do k-médias é a sua sensibilidade a *outliers* (valores extremos), já que ao se calcular os novos centroides para cada *cluster* em cada passo do processo iterativo, considera-se a média das distâncias de todos os itens que pertencem ao *cluster*. Outra desvantagem é que não

se pode lidar com *clusters* que não sejam globulares ou *clusters* de diferentes tamanhos e densidades. Finalmente, o k-média está restrito para dados os quais existe uma noção de um centro. Uma técnica relacionada que não apresenta esta restrição é o k-medoides que será explicada na próxima seção.

k-Medoides

O k-medoides é uma variação do k-médias. Ao invés de selecionar k centroides iniciais arbitrários, o k-medoides seleciona k itens do conjunto de dados (itens representativos). Os *clusters* correspondentes são definidos atribuindo a cada um dos itens restantes ao “item representativo” mais próximo. Entretanto, nem todas as escolhas dos k “itens representativos” asseguram uma “boa” clusterização. A chave é que os “itens representativos” devem ser escolhidos de tal maneira que estejam localizados no centro dos *clusters* que eles definem. Para ser exato, a distância média (ou dissimilaridade média) do “item representativo” a todos os outros itens do mesmo *cluster* seja minimizado. Por este motivo, tal “item representativo” ideal é chamado de “medoide” (LJ09). Daí o nome do método. O k-medoides faz um processo iterativo para melhorar os *clusters* de tal forma que seleciona o novo centroide como a mediana dos itens que representam a um *cluster*. O k-medoides é definido formalmente pelo seguinte algoritmo:

K-medoides Algoritmo básico do k-medoides

1. Selecione k pontos do conjunto de dados como centroides iniciais (medoides).
2. Forme k *clusters* atribuindo cada item ao medoide mais próximo.
3. Re-calcule o medoide de cada grupo.
4. Repita os passos 2 e 3 até que os medoides não mudem.

O k-medoides é um algoritmo de agrupamento mais robusto na presença de *outliers* em relação ao k-médias (LP90).

Clusterização espectral

Os algoritmos de clusterização espectral se tornaram populares nos últimos anos devido aos trabalhos de Ng (2002) (NA02) e Shi (2000) (JJ00) pois propuseram algoritmos de clusterização de grafos eficientes e de fácil implementação.

A diferença dos algoritmos de agrupamento apresentados nas seções anteriores, a clusterização espectral não pressupõe que os *clusters* tenham uma forma geométrica convexa (U.07) e serve também para clusterizar grafos. Em geral, a clusterização espectral pode lidar com situações complexas, como círculos concêntricos, espirais entrelaçadas ou outras formas não lineares.

Seja um grafo $G = (V, E)$, onde $V = v_1, \dots, v_n$ representa o conjunto de vértices e E as arestas. O problema da clusterização aplicado a grafos pode ser definido como particionar G em conjuntos disjuntos C_1, \dots, C_k otimizando alguma função objetivo. Neste trabalho, assumimos que G é ponderado e não-direcionado, portanto, a aresta $e = (v_r, v_s)$ entre os vértices v_r e v_s com $r, s = 1, \dots, n$ possui um peso $w_{r,s} = w_{s,r} \geq 0$. Logo, definimos $\mathbf{W} = (w_{r,s})_{r,s=1,\dots,n}$ a matriz de adjacência ponderada de G tal que, se $w_{r,s} = 0$ então os vértices v_r e v_s não estão conectados.

O algoritmo para resolver o problema de clusterização de grafos utilizado neste trabalho é o algoritmo de clusterização espectral não normalizado (U.07; Vid14) descrito como:

Entrada: o número de *clusters* k e a matriz de similaridades \mathbf{W} , onde $\mathbf{W} = (w_{r,s})_{r,s=1,\dots,n}$ (Neste trabalho, seja p o p -valor da correlação de Spearman entre duas regiões de interesse do cérebro, $w_{r,s} = p$).

1. Calcule a matriz diagonal \mathbf{D} , que contém d_1, \dots, d_n na diagonal onde $d_l = \sum_{q=1}^n w_{l,q} \forall l \in 1, \dots, n$.
2. Calcule a matriz Laplaciana $\mathbf{Q} = \mathbf{D} - \mathbf{W}$.
3. Calcule os autovetores $\mathbf{h}_1, \dots, \mathbf{h}_k$ associados aos k maiores autovalores de \mathbf{Q} .
4. Seja $\mathbf{H} \in \mathbb{R}^{n \times k}$ a matriz que contém os vetores $\mathbf{h}_1, \dots, \mathbf{h}_k$ como colunas.
5. Para $l = 1, \dots, n$, seja $\mathbf{y}_l \in \mathbb{R}^{n \times k}$ o vetor relativo a l -ésima linha de \mathbf{W} .
6. Clusterize os pontos $(\mathbf{y}_l)_{l=1,\dots,n}$ com o algoritmo de k -medoides nos *clusters* C_1, \dots, C_k .

Saída: *clusters* C_1, \dots, C_k .

O número de *clusters* k é definido utilizando o método da silhueta (J.87) que será descrito na próxima seção.

4.1.3 Seleção do número de *clusters*

Nas seções anteriores foram apresentados alguns métodos de clusterização. Note que todos esses métodos assumem que o número de *clusters* k é conhecido pelo usuário, o que geralmente não é verdade na prática.

Assim, o número de *clusters* precisa ser estimado. Para tal, existem diversas propostas na literatura para determinar o número de *clusters*. Aqui apresentaremos a estatística da silhueta (J.87) por apresentar bons resultados tanto na escolha do número de *clusters* como também pela sua interpretação.

4.1.4 Estatística da silhueta

O método da silhueta foi proposta em 1987 por Rousseeuw P.J. e Kaufman L (J.87). Intuitivamente, a estatística da silhueta mede o quão bem um item foi clusterizado o que pode ser usado para estimar o número de *clusters*.

Sejam $\chi = x_1, \dots, x_n$ itens de um indivíduo que estão clusterizados em $\zeta = C_1, \dots, C_k$ por algum método de clusterização. Note que $\chi = \cup_{q=1}^k C_q$. Denotemos a dissimilaridade como $d(x, y)$ (ex., distâncias Euclidiana ou Manhattan) entre os itens x e y e definimos a dissimilaridade média de x a todos os elementos do *cluster* $C \subset \zeta$ como:

$$d(x, C) = \frac{1}{|C|} \sum_{y \in C} d(x, y) \quad (4.1)$$

onde $|C|$ é o número de itens de C .

Denotemos como $D_q \in \zeta$ o *cluster* ao qual x_q foi atribuído pelo método de clusterização e por $E_q \in \zeta$ qualquer outro *cluster* diferente de D_q , para todo $q = 1, \dots, n$. Todas as quantidades envolvidas com a estatística da silhueta são dadas por:

$$a_q = d(x_q, D_q) \text{ e } b_q = \min_{E_q \neq D_q} d(x_q, E_q), \text{ para } q = 1, \dots, n \quad (4.2)$$

onde a_q é a dissimilaridade média do item x_q com o *cluster* ao qual foi atribuído e b_q é a menor dissimilaridade média do item x_q com os outros *clusters*.

Finalmente, a estatística para medir o quão bem o item x_q foi clusterizado é dada pela estatística da silhueta (J.87).

$$s_q = \begin{cases} 0, & \text{se } |D_q| = 1. \\ \frac{b_q - a_q}{\max(b_q, a_q)}, & \text{se } |D_q| > 1 \end{cases} \quad (4.3)$$

Note que, se $s_q \approx 1$ implica que a dissimilaridade com seu próprio *cluster* é bem menor do que a dissimilaridade com os outros *clusters* ($a_q \ll b_q$). Em outras palavras, o item x_q foi atribuído ao *cluster* apropriado já que o segundo melhor *cluster* está mas longe. Se $s_q \approx 0$, então $a_q \approx b_q$; e portanto não é claro se o item x_q deveria ser atribuído ao *cluster* atual ou ao segundo melhor *cluster* já que o item x_q está a mesma distância do *cluster* atual e do segundo melhor *cluster*. Se $s_q \approx -1$, então $a_q \gg b_q$ e significa que o item x_q está mais perto do segundo melhor *cluster* que o *cluster* atual. Portanto, é melhor atribuir o item x_q ao segundo melhor *cluster*.

A estatística da silhueta pode ser utilizada para estimar o número de *clusters* (J.87). Seja $s(r) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (s_i)$ a silhueta média de todos os itens quando os itens são clusterizados em r *clusters*, a escolha do número de *clusters* é dada por $k = \operatorname{argmax} s(r), r \in 2, \dots, n$ (J.87).

4.2 Dados

O conjunto de dados utilizados é o *Autism Brain Imaging Data Exchange* (ABIDE), que se encontra disponível publicamente no website ¹. O conjunto de dados ABIDE foi coletado em 17 laboratórios, sendo composto por imagens de ressonância magnética funcional e estrutural (dados brutos) de 573 indivíduos controle e 539 com alguma desordem do espectro autista, além disso o ABIDE contém informações sobre idade, gênero, mão utilizada para escrita, e quociente de inteligência (QI). Para o propósito do presente trabalho foram utilizados os indivíduos controle com idades entre 6 e 30 anos, isto é, 493 indivíduos no total, dos quais 98 são do sexo feminino.

4.3 Construção das redes de conectividade

Para a obtenção das redes de conectividade a partir das séries temporais do conjunto de dados ABIDE, primeiro as imagens de ressonância magnética funcional foram pré-processadas conforme o *pipeline Athena* (ver seção 2.1.1). Depois, foram extraídas as séries temporais de 351 regiões de interesse (ROIs, do inglês *Region Of Interest*) definidas pelo atlas CC400. As séries temporais com menos que 100 pontos após o *scrubbing* (PBS⁺12) foram eliminadas, restando 529 indivíduos (430 homens com idade média de 17.94 anos e desvio padrão de 8.00 e 99 mulheres com idade média de 15.44 anos e desvio padrão de 6.56) para as análises seguintes. Foram removidas ROIs pertencentes ao ventrículo, restando assim 316 ROIs (Vid14).

A rede de conectividade funcional foi construída para cada indivíduo utilizando a correlação de Spearman. Logo, o valor da correlação de Spearman foi transformado para z-valor utilizando a

¹http://fcon_1000.projects.nitrc.org/indi/abide/

transformada de Fisher (F^{+24}). Em seguida, o z-valor foi transformado em p-valor utilizando o p-valor unicaudal (área da distribuição normal a direita do z-valor). Posteriormente, para cada matriz foi aplicado o FDR (do Inglês *False Discovery Rate*) (BH95) para obter matrizes mais esparsas. Os valores de cada matriz foram transformados em z-valor e o efeito de sitio foi removido utilizando um modelo linear geral com o z-valor como variável de resposta e o sítio como variável categórica. Finalmente estes valores sem efeito de sitio foram transformados para p-valor. Assim a conectividade entre duas regiões é representada pelo *p-valor* da correlação de Spearman, note que o *p-valor* não é utilizado como a significância de um teste estatístico senão como a dissimilaridade entre duas ROIs.

4.4 Identificação das regiões do cérebro associadas com a idade

Em (FAJ14) foi apresentado o método *ANalysis of Cluster structure Variability* (ANOCVA) para identificar regiões do cérebro clusterizadas de maneira diferente entre classes de indivíduos (por exemplo, Autistas vs. Controle). Esse método pode ser aplicado também para identificar regiões que são clusterizadas de maneira diferente em relação à idade. No entanto, as idades devem ser discretizadas (por exemplo, em duas classes: menores de 18 anos, e maiores de 18 anos), pois não permite analisar a estrutura da clusterização usando uma variável contínua (por exemplo, idade), nem permite incluir variáveis preditoras na análise (por exemplo: sexo, idade, IQ, etc). Assim, nesta seção é apresentada um método baseado no ANOCVA a fim de superar essas limitações.

Podemos descrever o problema de identificar regiões associadas com a idade da seguinte maneira. Dados os grafos de conectividade funcional de t indivíduos representados por matrizes de adjacência $\mathbf{M}_1, \dots, \mathbf{M}_t$ de dimensões $n \times n$ e $\mathbf{I} = [i_1, \dots, i_t]^T$ um vetor coluna de números reais que representam a idade dos indivíduos, queremos verificar se existem ROIs cuja conectividade funcional mude em relação à variável \mathbf{I} . Para identificar as mudanças da conectividade de uma ROI utilizamos a estatística da silhueta descrita na seção 4.1.4.

Note que as matrizes $\mathbf{M}_1, \dots, \mathbf{M}_t$ são simétricas com respeito a diagonal principal cujos elementos são zero. Definimos a matriz $\bar{\mathbf{M}}$ de dimensões $n \times n$ como:

$$\bar{\mathbf{M}} = \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \mathbf{M}_i \quad (4.4)$$

Esta matriz representa o grafo de conectividade funcional médio de todos os indivíduos. Seja $\zeta = \{C_1, \dots, C_p\}$ os *clusters* (módulos) obtidos a partir da execução de um algoritmo de clusterização em $\bar{\mathbf{M}}$. Então definimos:

$$\mathbf{S}_i = [s_{i,1}, s_{i,2}, \dots, s_{i,n}], \forall i \in \{1, \dots, t\} \quad (4.5)$$

onde \mathbf{S}_i é um vetor linha de dimensão $1 \times n$ e $s_{i,j}$ é a silhueta da região j associado aos *clusters* ζ do i -ésimo indivíduo. No nosso caso, utilizamos a estatística da silhueta pois é uma medida de quão bem clusterizado está a ROI i num *cluster* (sub-rede) x . Assim, definimos a estatística da silhueta como um Índice de Ajuste à Rede (NFI do Inglês *Network Fitness Index*).

Para achar a associação do NFI de uma ROI com a variável \mathbf{I} , definimos o seguinte teste estatístico:

Consideremos um Modelo Linear General (GLM, do inglês *General Linear Model*) definido como:

$$\mathbf{S}_r = \beta_0 \times I + \beta_1 \times V_1 + \dots + \beta_m \times V_m + \epsilon, \forall r \in 1, \dots, n$$

Queremos testar se existe alguma região $r = 1, \dots, n$ cuja conectividade funcional intra e inter-modular muda em relação a variável **I**. Então, testamos a seguinte hipótese:

H_0 : $\beta_0 = 0$, o NFI da região $r = 1, \dots, n$ não está associado linearmente com a variável **I**.

H_1 : O NFI da região $r = 1, \dots, n$ está associado linearmente com a variável **I**.

Capítulo 5

Resultados e discussões

5.1 Resultados

Os dados de fMRI foram pré-processados utilizando o *pipeline Athena* e logo foram construídas as redes de conectividade funcional como foi descrito na seção 4.3. Em seguida, as redes funcionais do estado de repouso foram construídas e os módulos funcionais obtidos utilizando a clusterização espectral (U.07). O número de *clusters* (sub-redes) foi estimado utilizando a estatística da silhueta (J.87) 5.1. Como pode-se observar na figura 5.1, foram obtidas 5 sub-redes as quais são consistentes com outros estudos (DLMM06; LAP11; BKY13). As cinco sub-redes identificadas 5.2 foram: Rede do Cerebelo (RCe), Rede de Modo Padrão (RMP), Rede Fronto-parietal (RFP), Rede Somatomotor (RS), e a Rede Visual (RV). Posteriormente, foram identificadas as ROIs cujas NFI estivessem associadas à idade, utilizando um Modelo Linear Geral (GLM) como descrito na seção 4.4. Os dados com e sem *scrubbing* foram analisados separadamente como descrito no pipeline de análise de dados 5.3. No GLM, além da idade, foram utilizados como covariáveis o sexo e a porcentagem de volumes removidos pelo *scrubbing*. Uma vez obtidos os modelos ajustados dos dados com e sem *scrubbing* de cada ROI, foram excluídas ROIs que apresentavam uma diferença maior do que 5% no valor dos p-valores nominais correspondente à idade entre os dados com e sem *scrubbing*. Finalmente, as ROIs restantes com p-valores menores do que 5% após a correção para múltiplos testes com o método FDR (do Inglês *False Discovery Rate*) (YY95) foram consideradas estatisticamente significativas. A imagem 5.3 mostra o pipeline de análise de dados que foi aplicado aos dados.

As ROIs (Figura 5.4) identificadas como estatisticamente associadas a idade foram: (i) tronco cerebral, (ii) polo temporal direito, (iii) planum polare direito, polo frontal (iv) esquerdo e (v) direito, (vi) putamen esquerdo, (vii) córtex cuneal direito, (viii) córtex precuneus esquerdo, (ix) lobo parietal superior direito, e (x) giro frontal superior direito. A figura 5.5 mostra a associação entre a idade e o NFI para cada ROI. Na figura 5.5 todas as ROIS associadas a idade apresentam uma associação negativa com o NFI. Isso significa que as ROIs associadas com a idade têm uma tendência de trocar de *cluster*, pois enquanto mais próximo de -1 o valor do NFI mais perto do segundo melhor *cluster* está a ROI.

Para entender melhor como a estrutura de clusterização muda ao longo das diferentes etapas do neurodesenvolvimento, os dados foram divididos em três grupos (crianças, adolescentes e adultos): (i) crianças: 169 indivíduos (134 homens) com idades na faixa de $[6, 13[$ anos (idade média \pm desvio padrão, 10.58 ± 1.60), (ii) adolescentes: 178 indivíduos (137 homens) com idades na faixa de $[13, 18[$ (15.21 ± 1.36), e (iii) adultos: 146 indivíduos (126 homens) com idades na faixa de $[18, 31[$ (23.23 ± 3.59). Em seguida, foi calculada a proporção de indivíduos atribuídos a cada *cluster* em cada etapa do neurodesenvolvimento (crianças, adolescentes e adultos).

Na figura 5.6 de podemos observar que: (1) o giro frontal superior direito tende a se mover da

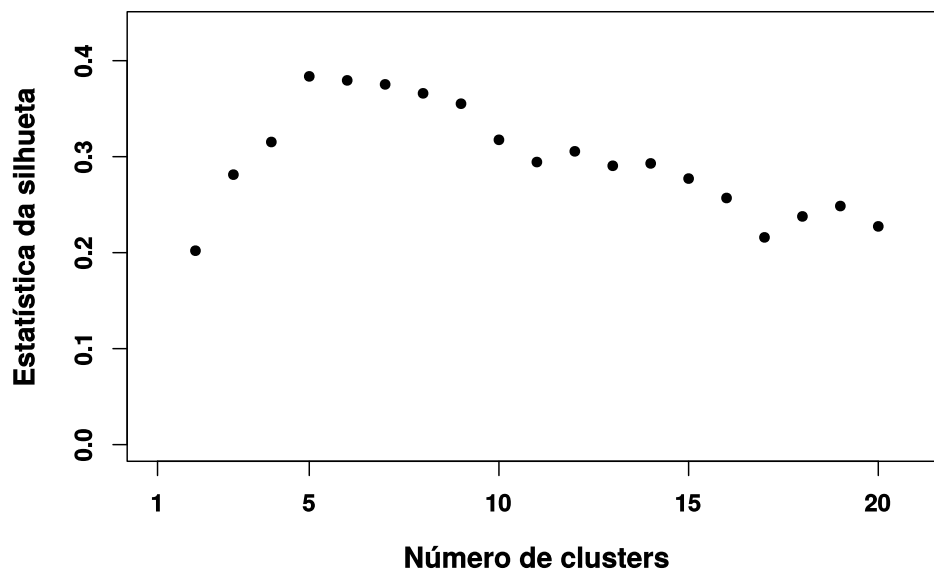


Figura 5.1: Aplicação da estatística da silhueta para obter o número de clusters (sub-redes) da rede funcional do cérebro. Os eixos x e y representam o número de clusters e a estatística média da silhueta, respectivamente. Note que o valor da silhueta é máximo quando a rede é dividida em cinco clusters (sub-redes). Em outras palavras, a estatística da silhueta sugere que o número de clusters ótimo para a rede funcional do cérebro é cinco.

rede somatomotor à rede de modo padrão; (2) o polo frontal direito tende a se mover da rede de modo padrão à rede fronto-parietal; (3) o lobo parietal superior direito tende se a mover da rede somatomotor à rede visual; (4) O *planum polare* direito tende se a mover da rede de modo padrão à rede somatomotor; (5) o tronco cerebral tende se a mover da rede cerebelar à rede somatomotor; (6) o polo temporal direito tende se a mover da rede de modo padrão à rede somatomotor; (7) o putamen esquerdo tende se a mover da rede somatomotor à rede cerebelar; (8) o córtex precuneus esquerdo tende se a mover da rede visual à rede de modo padrão; (9) o polo frontal esquerdo tende se a mover da rede fronto-parietal à rede somatomotor; e (10) o córtex cuneal direito tende se a mover da rede visual à rede somatomotor. Aqui nos referimos que uma ROI se movimentava para outra rede, não ao fato de que a ROI de fato translada no espaço físico, mas no sentido de que a conectividade funcional da ROI com a outra rede aumenta com a idade, enquanto a conectividade funcional com a rede a qual pertence na infância diminui. Na figura 5.6 também podemos observar que quatro ROIs: giro frontal superior direito, lobo parietal superior direito, planum polare direito, e o polo frontal esquerdo; apresentam silhueta negativa, o que significa que eles foram atribuídos à segunda melhor rede pelo algoritmo de clusterização. Isso aconteceu devido ao fato de que os algoritmos de clusterização não tem como alvo maximizar a estatística da silhueta.

5.2 Discussões

No presente trabalho foi realizada uma análise da rede funcional do cérebro a fim de identificar as ROIs que estejam diferencialmente clusterizadas entre as diferentes etapas do neurodesenvolvimento. Uma das características mais ressaltantes do cérebro humano é a modularidade, pois os processos cognitivos resultam das interações entre as regiões do cérebro, como a memória. Além disso, o fato do cérebro ser modularizado faz que ele seja mais eficiente, pois isto permite uma rápida adaptação às mudanças das condições ambientais. Assim, as regiões do cérebro podem ser

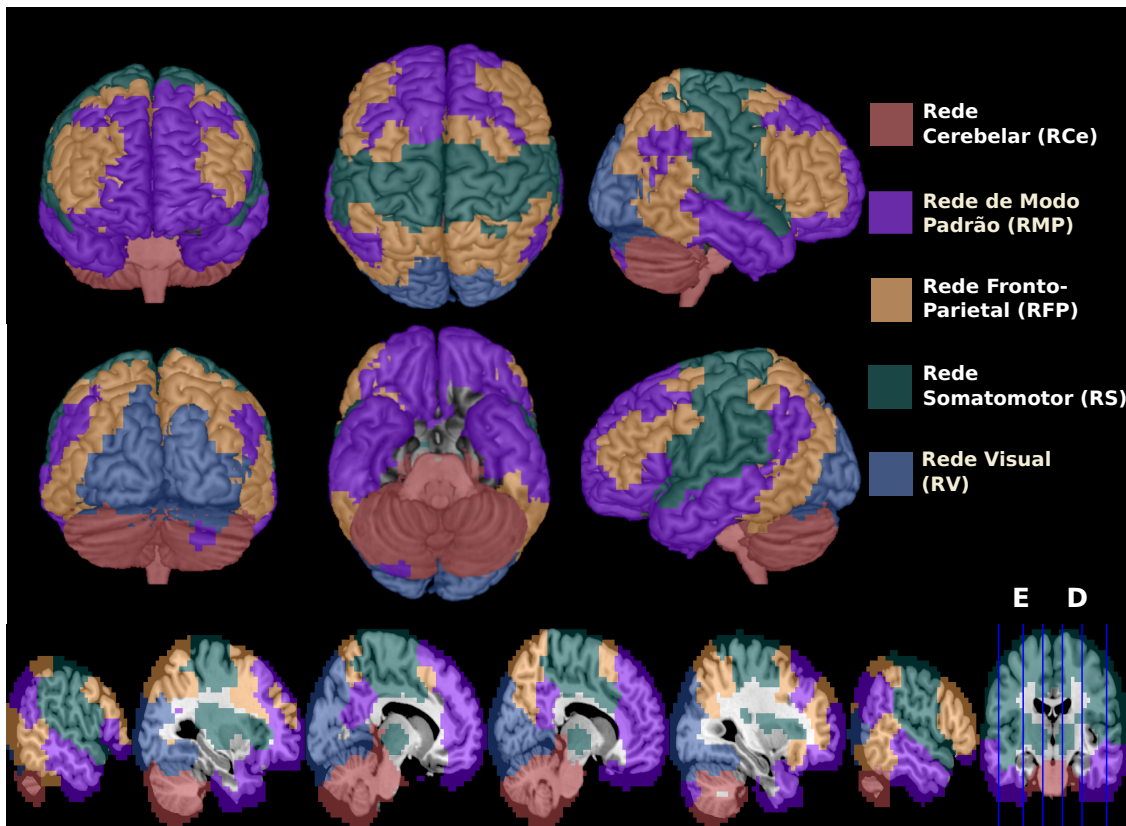


Figura 5.2: Vista tridimensional e cortes sagitais das cinco sub-redes obtidas com o método de clusterização espectral. Cada cor representa uma sub-rede

agrupadas de acordo com os processos cognitivos nos quais participa, por exemplo, as regiões do córtex occipital estão encarregadas do processamento visual. Assim, mediante a análise do rsfMRI pode se identificar distintos módulos (*clusters*), ou seja, regiões que pertencem a um mesmo módulo apresentam grande conectividade funcional entre eles e pouca conectividade funcional com regiões de outros módulos. Neste trabalho foram obtidas as redes de estado de repouso utilizando o algoritmo de clusterização espectral. O número de *clusters* foi estimado usando a estatística da silhueta; obtendo assim cinco redes no estado de repouso: rede cerebelar (RCe), rede de modo padrão (RMP), rede fronto-parietal (RFP), rede somatomotor (RS), e a rede visual (RV). Estas redes são consistentes com outros trabalhos da literatura (DRB⁺06; DLMM06).

É conhecido que a movimentação da cabeça durante a coleta de dados de fMRI pode afetar as estimativas da conectividade funcional em estudos de neurodesenvolvimento (PBS⁺12; VDKR12), pois acrescenta correlações (entre as séries BOLD de duas ROIs) de curto alcance e diminui as correlações de longo alcance. Para minimizar o efeito da movimentação da cabeça, foi utilizado o procedimento *scrubbing* proposto por (PBS⁺12). Como o número de volumes removidos varia de indivíduo para indivíduo, utilizamos a quantidade de volumes removidos como co-variável no Modelo Linear Geral (GLM).

Após obtermos as redes de estado de repouso e aplicado o *pipeline* de análise de dados, foram encontradas dez ROIS relacionadas com a idade: giro frontal superior direito, polo frontal direito, lobo parietal superior direito, planum polare direito, tronco cerebral, polo temporal direito, putamen esquerdo, córtex precuneus esquerdo, polo frontal esquerdo, e o córtex cuneal direito. Todas estas ROIs apresentam uma redução no NFI ao longo do desenvolvimento, o qual significa que elas são clusterizadas de forma diferente dependendo da idade. A diminuição do NFI implica que a conectividade funcional da ROI com as outras ROIs que pertencem à sub-rede (módulo) diminui, enquanto a conectividade funcional da ROI com as ROIs de outra sub-rede aumenta. Em

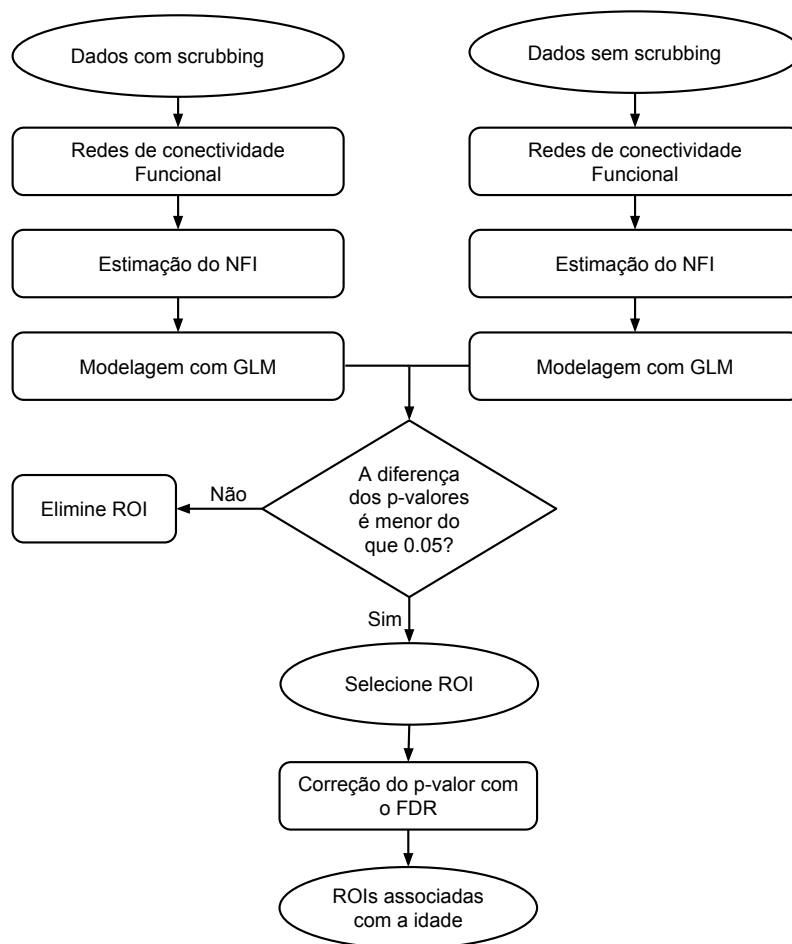


Figura 5.3: Primeiro, foram construídas as redes de conectividade funcional estimando o coeficiente de correlação de Spearman entre as séries temporais de duas ROIs tanto para os dados com e sem scrubbing. Após disso, foram obtidas as sub-redes do estado de repouso utilizando o algoritmo de clusterização espectral. Logo, para cada uma das ROIs foi calculado o Índice de Ajuste à Rede (NFI). Para identificar as ROIs associadas com a idade, modelamos o NFI utilizando um Modelo Linear Geral (GLM) com o sexo e o número de volumes removidos pelo scrubbing como covariáveis. As ROIs que apresentaram diferenças maiores do que o 5% nos seus p-valores foram removidas. E os p-valores das ROIs que ficaram foram corrigidas utilizando o método FDR, e todas aquelas ROIs cujo p-valor corrigido fosse menor do que 5% foram consideradas como ROIs associadas a idade.

outras palavras, a diminuição do NFI implica que a conectividade intra-modular diminui enquanto a conectividade inter-modular aumenta. A diminuição da conectividade funcional intra-modular pode ser explicada pela poda das sinapses que foram criadas nos primeiros anos de vida, o encolhimento celular com a idade (GBJ⁺99; SPT⁺03), e fatores trópicos tróficos (JT10); os quais mudam a conectividade funcional subcortical-cortical pela poda de ligações subcorticais específicas (SMM09). Por outro lado, o aumento da conectividade inter-modular pode ser explicado pelo aumento das conexões com outras sub-redes através da mielinização das vias cerebrais (GBJ⁺99).

Apesar de que os NFI das ROIs associadas com a idade diminuem, estas apresentam diferentes padrões de mudança de *cluster* as quais dependem do valor da silhueta que foi obtida quando a matriz média (\bar{M}) foi clusterizada. Assim as ROIs podem ser divididas em dois grupos:

- (a) **ROIs com silhuetas negativas:** Giro frontal superior direito, lobo parietal superior direito, *planum polare* direito, polo frontal direito e esquerdo
- (b) **ROIs com silhuetas positivas:** Tronco cerebral, polo temporal direito, putamen esquerdo, córtex precuneus esquerdo, córtex *cuneal* direito

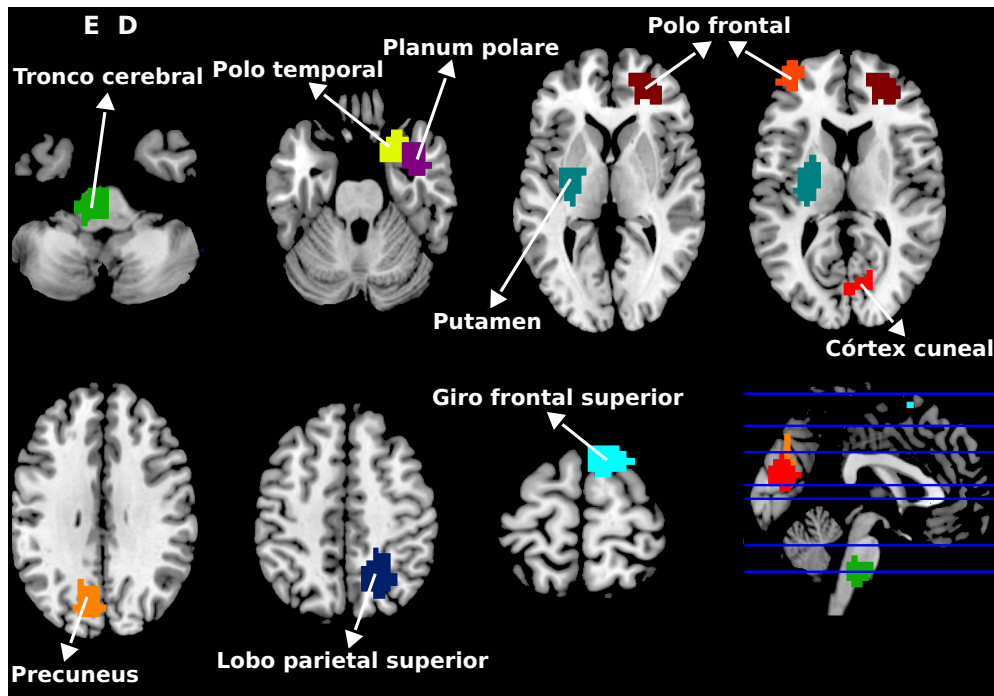


Figura 5.4: Cada uma das dez ROIs associadas com a idade está colorida com diferentes cores. Estas regiões são: tronco cerebral, polo temporal direito, planum polare direito, polo frontal direito e esquerdo, putamen esquerdo, córtex cuneal direito, córtex precuneus esquerdo, lobo parietal superior direito, e giro frontal superior direito. Só as ROIs com p -valor < 0.05 após correção por múltiplos testes com FDR são mostrados.

As ROIs pertencentes ao grupo (a) foram atribuídas ao *cluster* errado é por isso que essas regiões têm silhuetas negativas; enquanto as ROIs do grupo (b) têm silhuetas positivas porque foram atribuídas ao *cluster* certo. Na literatura, as regiões do grupo (a) são conhecidas como *hubs* provinciais (Spo11) pois eles têm alta conectividade com as outras regiões de seu módulo; enquanto as regiões do grupo (b) são conhecidas como *hubs* conectores (Spo11) pois estas regiões atuam como intermediários na interação entre seu módulo e módulos vizinhos. As variações individuais nos perfis de conectividade dos *hubs* têm sido relacionados com diferenças individuais na inteligência, no desempenho em distintos domínios cognitivos, e das características pessoais (vdHS13). Estudos de neurodesenvolvimento têm achado que os *hubs* estruturais aparecem nos primeiros anos de vida, e é durante a infância quando aparecem os primeiros *hubs* funcionais. Estas regiões são caracterizadas porque suas interações com outras regiões apresentam mudanças associadas com o neurodesenvolvimento cognitivo (vdHS13).

A transição da infância à fase adulta envolve grandes mudanças nas funções cognitivas que são importantes para o comportamento adulto. Estas funções complexas são conhecidas como “funções executivas” as quais incluem: controle cognitivo, controle da atenção, controle da motivação, raciocínio, resolução de problemas, planejamento, e memória de trabalho. Estas funções são desenvolvidas em grande parte na adolescência e nos primeiros anos da fase adulta. As funções de controle cognitivo permitem ao adulto ter um melhor controle da inibição motora e a inibição de interferências, o monitoramento do desempenho e o controle da atenção. Também é desenvolvida a capacidade de comutação da atenção entre diferentes tarefas (flexibilidade cognitiva). Outras funções pouco estudadas são as funções de temporização. Estas funções são categorizadas em: (1) temporização motora, a qual permite o ajuste das respostas motoras a dados intervalos de tempo; (2) percepção do tempo, a qual permite discriminar faixas de tempo entre milissegundos até minutos; e (3) previsão temporal, que permite avaliar as decisões e suas consequências em faixas de tempo longos entre semanas até anos (K.13) A atenção é uma função essencial para o comportamento adulto, pois permite ao indivíduo focar-se num estímulo enquanto ignora outros

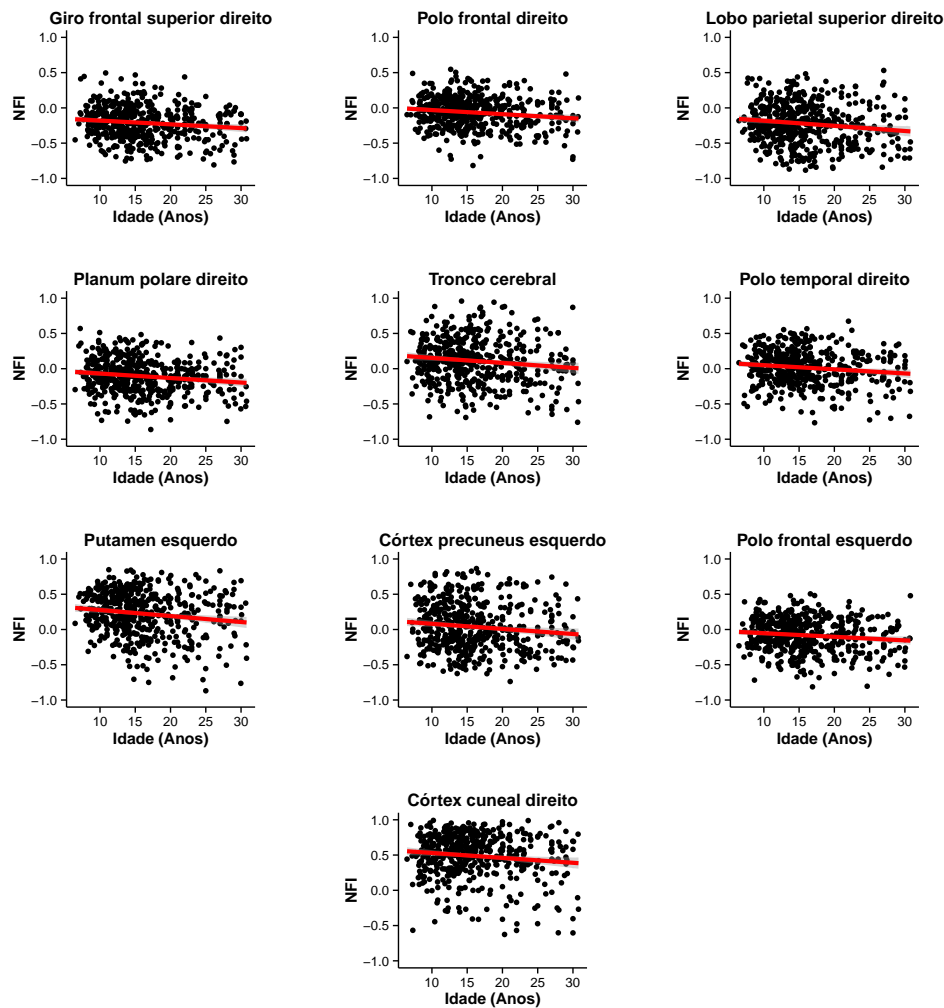


Figura 5.5: Os eixos x e y representam a idade em anos e o Índice de Ajuste à Rede (NFI), respectivamente. Note que para as dez ROIs, quanto maior a idade, menor o NFI.

voluntariamente. Uma outra característica do comportamento adulto é sua capacidade de controle da sua motivação em tarefas cognitivas que tem recompensas. Neste caso, as recompensas poderiam ser internas (por exemplo, a ambição) ou externas (por exemplo, incentivos) as quais estimulam o interesse do indivíduo em realizar um bom desempenho numa tarefa (K.13).

Entre as ROIs relacionadas com a idade encontradas com o método desenvolvido, temos o giro frontal superior direito o qual forma parte da rede de modo padrão (RMP) (DLMM06). Considerada como um *hub* conector já que é uma região multimodular, pois além de pertencer à RMP também faz parte da rede de saliência (vdHS13) (esta rede monitora a saliência das entradas externas e eventos internos do cérebro que guiam o comportamento flexível (vdHS13)). Está associada à função de iniciação e monitoramento da fala especificamente no processamento semântico, as quais formam parte das funções executivas e de regulação do comportamento (FCI⁺14) desenvolvidas entre a adolescência e a fase adulta (K.13). Esta região também está envolvida na antecipação de sequências de sons, o reconhecimento de características no rosto e no aprendizado de novas categorias (AJ15). Em pessoas com transtorno de estresse pós-traumático, esta região mostra mais conectividade com o córtex cingulado posterior (MWL10), e indivíduos com autismo apresentam uma baixa conectividade com o córtex cingulado posterior, o giro parahipocampal e o lobo temporal as quais estão associadas com a perturbação das interações sociais (WWP⁺10).

O lobo parietal superior direito nos adultos forma parte da rede visual (VN). É um *hub* conec-

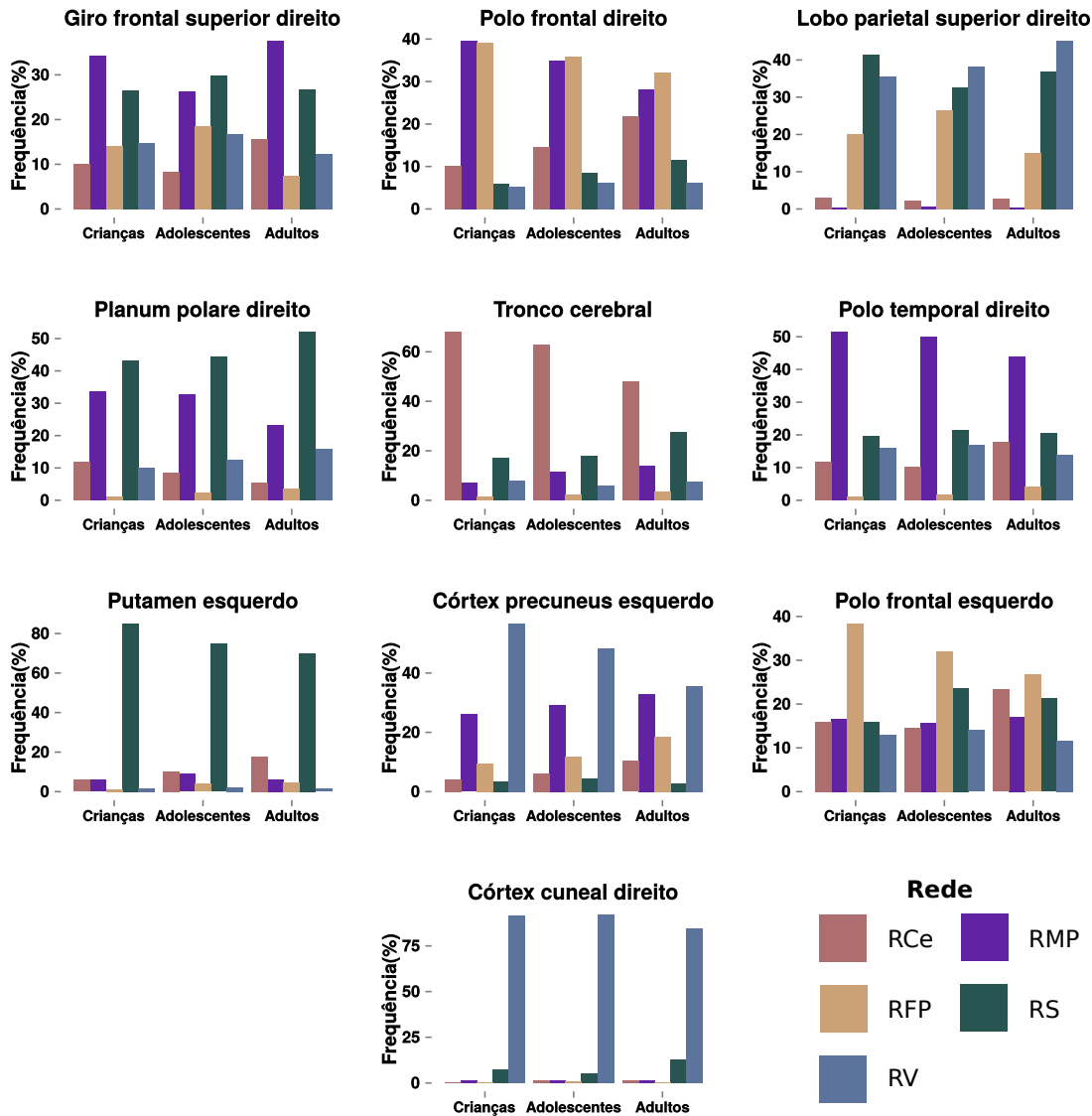


Figura 5.6: Proporção de indivíduos em cada etapa do neurodesenvolvimento (crianças, adolescentes e adultos) atribuídos a cada um dos clusters. RCe: Rede Cerebelar. RMP: Rede de Modo Padrão. RFP: Rede Fronto-Parietal. RS: Rede Somatomotor. RV: Rede Visual.

tor (vdHS13), portanto é uma região multimodular já que também faz parte da rede somatomotor (vdHS13; RLM98). No passado, se achava que o lobo parietal superior direito só processava informação somatosensorial, no entanto, recentemente se sabe que também processa informação visual ou somatosensorial com o controle de efetores específicos (EG15). Esta região também está envolvida em operações aritméticas, funções de memórias potenciais, auto-percepção e geração de pensamentos internos (Cas15). Finalmente, esta região está envolvida na mediação de deslocamentos espaciais das prioridades da atenção visual a qual foi uma das principais descobertas do domínio da atenção visual-espacial da última década, já que esta região junto com o sulcus intraparietal medial focam a atenção em atributos relevantes ao evento (VG15; LW15). Assim seu alto envolvimento seu maior envolvimento com a rede Visual pode ser explicado pelo fato de que a atenção é desenvolvida na transição da infância até a fase adulta (K.13).

O *planum polare* direito nos adultos faz parte da rede somatomotor. Esta região se encontra no lobo temporal o qual compreende áreas visuais, auditivas e de associação. O *planum polare* junto com o *planum temporale* tem a função de fazer a análise de sinais auditivos tanto para fazer

categorização semântica quanto processamento de música de alto nível (BMH⁺04; TCG15).

O polo frontal direito e esquerdo cumprem diferentes funções e sua mudança na conectividade inter e intra modular é diferente para estes dois, já que no caso do polo frontal direito nas crianças pertence a rede de modo padrão e com a idade vai acrescentando sua conectividade com a rede fronto-parietal. No caso do polo frontal esquerdo, nas crianças, esta região está mais conectada com a rede fronto-parietal e com a idade sua conectividade funcional aumenta com as regiões do córtex somatomotor. Estas regiões estão relacionadas ao processamento de funções executivas, pois estão envolvidas em funções cognitivas de alto nível como o planejamento de ações futuras, a habilidade de fazer analogias, tomada de decisões e na valorização das recompensas futuras (Fus88; KH07), as quais são desenvolvidas na adolescência e parte da fase adulta (K.13).

Neste trabalho encontramos que o tronco cerebral tem uma alta conectividade com a rede cerebelar. No entanto, esta diminui com a idade enquanto aumenta sua conectividade com a rede somatomotor. Esta região liga o cérebro à medula espinhal e contribui 10 dos 12 pares de nervos cranianos (tD15) o qual faz que esteja envolvido com o controle da respiração, circulação, estado de vigília (do Inglês *wakefulness*), a locomoção, e o processamento do sono juntamente com o córtex auditivo. Em geral, está envolvido com o processamento de informações sensoriais e emocionais. Por exemplo, quando um indivíduo se encontra em perigo, a amígdala avalia e processa a ameaça, e ao mesmo tempo são ativadas as respostas motoras defensivas autônomas através de circuitos paralelos do hipotálamo e tronco cerebral (LaB15).

O polo temporal direito pertence à rede de modo padrão em todas as etapas do neurodesenvolvimento, contudo sua conectividade com a rede de modo padrão diminui, enquanto sua conectividade com a rede somatomotor aumenta. Esta região está envolvida com a percepção de faces e o reconhecimento das emoções que são expressas no rosto; cabe ressaltar que, para ter a mesma capacidade de reconhecer emoções de um adulto uma criança precisa de até 10 ou mais anos de prática (KH15). Outras funções nas quais está envolvida são o processamento semântico (no qual atua como *hub*), na cognição social pois está envolvido no processamento de emoções além das emoções básicas que estão relacionadas aos valores morais e sociais como orgulho, culpa, vergonha, perplexidade, e indignação (DS15; JP15). Esta região juntamente com o sulcus temporal superior, o precuneus e o córtex pré-frontal médio se ativam quando é dado sentido aos objetivos e intenções das ações de um mesmo (APP15). Também participa na formação de impressões de outros indivíduos e faz inferências das características dos indivíduos junto com outras regiões que pertencem ao sistema de mentalização, que por sua vez formam parte da rede de modo padrão. As maiores mudanças das habilidades sociais-cognitivas acontecem durante a adolescência como parte de um programa de desenvolvimento maior, pois na adolescência também acompanham a maturação social, cognitiva, hormonal e fisiológica (KH15).

O putamen esquerdo é uma região cuja conectividade funcional com a rede somatomotor é forte durante todas as etapas do neurodesenvolvimento. No entanto, sua conectividade com esta rede diminui enquanto sua conectividade com a rede cerebelar aumenta. Esta região também está relacionada com a rede de saliência, portanto está envolvida com funções de reconhecimento de eventos biológicos e cognitivos relevantes os quais orientam o comportamento (Men15). O putamen é um *hub* conector (GS14), pois está envolvido em diversas funções como: controle autônomo simpático, sistema de recompensa, percepção de uma batida regular dentro de um ritmo auditivo, experiência emocional, controle motriz, estimativa de duração de um evento, e aprendizado de novas sequências de movimentos (Sch15; Cou15a; FGB15; Cou15b; Pri15). A alta conectividade funcional do putamen com a rede Somatomotor é justificado pelo fato de que esta região recebe conexões físicas principalmente do córtex somatomotor.

O córtex precuneus esquerdo está altamente conectado com a rede visual em todas as etapas da vida, mas perde sua conectividade com a idade, enquanto sua conectividade com a rede de modo padrão se acrescenta. Na literatura esta região está associada à rede de modo padrão e é uma das

regiões mais importantes de este junto com o córtex cingulado anterior (PJS10), além disso esta região é uma região epicentro o qual significa que tem uma função fundamental na fusão e na comutação de diferentes sistemas funcionais (vdHS13), portanto forma parte de diferentes funções cognitivas. Esta região está envolvida com funções que estejam mais relacionadas com processos cognitivos do que processos motores. Assim, esta região está relacionada com funções de memória prospectiva, auto-percepção, geração de pensamentos internos, processamento autônomo, memória episódica, experiência emocional, sistema de mentalização, tomada de decisões relacionadas, antecipação de estímulos visuais potencialmente distrativos, controle executivo, processamento semântico, e no reconhecimento de faces. Sua alta conectividade com a rede visual é compreensível, pois já outros autores propuseram que o precuneus é parte de uma rede funcional especializada no processamento do comportamento espacial guiado. O qual se encarrega de elaborar informação das relações espaciais egocêntricas e aloecêntricas para o controle dos movimentos do corpo, como também da execução de processos de alto nível como a mudança voluntária da atenção, e tarefas abstratas de imagens (representação mental dos movimentos do corpo) (CT06).

Finalmente o córtex *cuneal* ou *cuneus* direito também conhecido como a área de Broadman 17, cuja conectividade funcional com a rede visual é forte durante todas as etapas do neurodesenvolvimento. No entanto, sua conectividade funcional com esta rede apresenta uma diminuição com a idade, enquanto sua conectividade com a rede somatomotor se acrescenta. Sua alta conectividade funcional com a rede visual é devido a que esta região recebe entrada de informação correspondente ao campo visual inferior, além de pertencer as vias ventrais e dorsais do processamento visual; a via dorsal é particularmente importante pois está encarregado da integração visual e da análise espacial. O córtex *cuneal* joga um rol importante no processamento visual primário e secundário, além disso esta região está envolvida com as funções de resposta a recompensas, atenção, manipulação da memória de trabalho, e inclusive existe evidencia de sua participação no processamento de sinais de atenção (JKC11). Seu maior envolvimento com a rede somatomotor com a idade poderia ser devido a que com a idade se tem um maior controle do movimento do olho, pois o córtex somatomotor está envolvido no controle do movimento e a iniciação destas. E com um maior controle da movimentação do olho implica uma melhoria da atenção (RF01; K.13).

Capítulo 6

Conclusão

Existem diversos estudos sobre o uso do fMRI para associar as diversas funções do cérebro (por exemplo, função motora, linguagem, memória, visão, saliência) com doenças e o neurodesenvolvimento. Estas funções não só são geradas pela ativação de uma região específica do cérebro, como também da interação de diferentes regiões do cérebro formando assim uma rede de conectividade funcional. Estas redes funcionais mudam ao longo do neurodesenvolvimento para assim poder gerar funções mais complexas. O desenvolvimento de metodologias para identificar e interpretar como ocorrem as mudanças estruturais nessas redes funcionais no neurodesenvolvimento é essencial para melhor compreender a trajetória do cérebro ao longo da vida.

Neste trabalho foi desenvolvida uma nova ferramenta para identificar as regiões do cérebro que estão agrupados de maneira diferente respeito de uma variável contínua. Este método foi aplicado no banco de dados ABIDE utilizando só indivíduos normais com idade menor do que 31 anos. Foram encontradas regiões cuja conectividade intra-modular decrescia enquanto sua conectividade inter-modular aumentava ao longo da idade do indivíduo, o que implica que a estrutura de clusteração do cérebro muda em função da idade. As regiões identificadas são: giro frontal superior direito, polo frontal direito, lobo parietal superior direito, planum polare direito, tronco cerebral, polo temporal direito, putâmen esquerdo, córtex precuneus esquerdo, polo frontal esquerdo, e o córtex cuneal. Todas estas regiões têm múltiplas funções pois pertencem a diferentes sistemas cognitivos.

Contudo, apesar deste estudo identificar as regiões do cérebro relacionadas com a idade, é necessário comentar sobre suas limitações. Uma dessas limitações é o fato de ter sido utilizado uma análise de dados fMRI transversal, ou seja, foram utilizados indivíduos diferentes considerando que todos eles apresentam as mesmas mudanças. Os problemas que se apresentam quando se faz uma análise transversal podem ser superados utilizando uma análise de dados fMRI longitudinal. O fato de se assumir que o número de sub-redes (*clusters*) é a mesma ao longo do neurodesenvolvimento também é uma limitação, já que isso pode não ser verdade. Uma solução seria desenvolver um método que possa capturar também a mudança no número de *clusters* com a idade.

Referências Bibliográficas

- [AAT11] Poldrack R. A., Mumford J. A. e Nichols T.E. *Handbook of functional MRI data analysis*. Cambridge University Press, 2011.
- [AJ15] Buss A.T e Spencer J.P. Rule representation. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:11–19, 2015.
- [Ank92] C Davison Ankney. Sex differences in relative brain size: The mismeasure of woman, too? *Intelligence*, 16(3):329–336, 1992.
- [APP15] A. Rossi A. Puce e F.J. Parada. Biological motion. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 3:125–130, 2015.
- [BF15] D.S. Barron e P.T. Fox. Brainmap database as a resource for computational modeling. 1:675–683, 2015.
- [BH95] Yoav Benjamini e Yosef Hochberg. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, páginas 289–300, 1995.
- [BKY13] Randy L Buckner, Fenna M Krienen e BT Thomas Yeo. Opportunities and limitations of intrinsic functional connectivity mri. *Nature neuroscience*, 16(7):832–837, 2013.
- [BMH⁺04] Steven Brown, Michael J Martinez, Donald A Hodges, Peter T Fox e Lawrence M Parsons. The song system of the human brain. *Cognitive Brain Research*, 20(3):363–375, 2004.
- [BS12] Ed Bullmore e Olaf Sporns. The economy of brain network organization. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(5):336–349, 2012.
- [Bux09] Richard B Buxton. *Introduction to functional magnetic resonance imaging: principles and techniques*. Cambridge university press, 2009.
- [BZYHH95] Bharat Biswal, F Zerrin Yetkin, Victor M Haughton e James S Hyde. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. *Magnetic resonance in medicine*, 34(4):537–541, 1995.
- [Cas15] S. Caspers. Posterior parietal cortex: Structural and functional diversity. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:317–323, 2015.
- [CBS05] Liston C. Casey B.J., Tottenham N. e Durston S. Imaging the developing brain: what have we learned about cognitive development? *Trends in cognitive sciences*, 9(3):104–110, 2005.

- [CBT05] Galvan A. Casey B.J. e Hare T.A. Changes in cerebral functional organization during cognitive development. *Current opinion in neurobiology*, 15(2):239–244, 2005.
- [CEG00] Townsend J. Cowles A. Covington J. Egaas B. Harwood M. Hinds S. Courchesne E., Chisum H.J. e Press G.A. Normal brain development and aging: quantitative analysis at in vivo mr imaging in healthy volunteers 1. *Radiology*, 216(3):672–682, 2000.
- [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, 2012.
- [CM00] Robert J Cabin e Randall J Mitchell. To bonferroni or not to bonferroni: when and how are the questions. *Bulletin of the Ecological Society of America*, 81(3):246–248, 2000.
- [Cou15a] J.T. Coull. Directing attention in time as a function of temporal expectation. 2:687–693, 2015.
- [Cou15b] J.T. Coull. A frontostriatal circuit for timing the duration of events. 3:565–570, 2015.
- [CRH12] Hu X.P. Craddock R.C., Holtzheimer P.E. e Mayberg H.S. A whole brain fmri atlas generated via spatially constrained spectral clustering. *Human brain mapping*, 33(8):1914–1928, 2012.
- [CT06] Andrea E Cavanna e Michael R Trimble. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain*, 129(3):564–583, 2006.
- [D.A99] McCormick D.A. Spontaneous activity: signal or noise? *Science*, 285(5427):541–543, 1999.
- [DA15] Goldenberg D. e Galván A. The use of functional and effective connectivity techniques to understand the developing brain. *Developmental cognitive neuroscience*, 12:155–164, 2015.
- [DDL15] Jessica Dubois e Ghislaine Dehaene-Lambertz. Fetal and postnatal development of the cortex: Mri and genetics. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:277–282, 2015.
- [DFM⁺07] Nico UF Dosenbach, Damien A Fair, Francis M Miezin, Alexander L Cohen, Kristin K Wenger, Ronny AT Dosenbach, Michael D Fox, Abraham Z Snyder, Justin L Vincent, Marcus E Raichle et al. Distinct brain networks for adaptive and stable task control in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(26):11073–11078, 2007.
- [DLMM06] De Stefano N. Matthews P.M. De Luca M., Beckmann C.F. e Smith S. M. fmri resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *Neuroimage*, 29(4):1359–1367, 2006.
- [DM09] Jan Derrfuss e Raymond A Mar. Lost in localization: the need for a universal coordinate database. *Neuroimage*, 48(1):1–7, 2009.
- [DRB⁺06] JS Damoiseaux, SARB Rombouts, F Barkhof, P Scheltens, CJ Stam, Stephen M Smith e CF Beckmann. Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proceedings of the national academy of sciences*, 103(37):13848–13853, 2006.

- [DS15] A.S. Dick e S.L. Small. Structural and functional components of brain networks for language. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:653–659, 2015.
- [DVP⁺06] Nico UF Dosenbach, Kristina M Visscher, Erica D Palmer, Francis M Miezin, Kristin K Wenger, Hyunseon C Kang, E Darcy Burgund, Ansley L Grimes, Bradley L Schlaggar e Steven E Petersen. A core system for the implementation of task sets. *Neuron*, 50(5):799–812, 2006.
- [EG15] M. Gerbella S. Rozzi E., Borra e Luppino G. Motor cortex. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:11–19, 2015.
- [EJNP12] Dennis E.L., Johnson K. McMahon K.L De Zubicaray G. Martin N.G. Hickie I.B. Wright M.J. Jahanshad N., Toga A.W. e Thompson P.M. Changes in anatomical brain connectivity between ages 12 and 30: A hardi study of 467 adolescents and adults. Em *Biomedical Imaging (ISBI), 2012 9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*, páginas 904–907. IEEE, 2012.
- [EM15] S.B. Eickhoff e V.I. Müller. Functional connectivity. 1:187–201, 2015.
- [eMF10] Faro S.H. e Mohamed F.B. *BOLD fMRI: A guide to functional imaging for neuroscientists*. Springer Science & Business Media, 2010.
- [EP13] Dennis E.L. e Thompson P.M. Mapping connectivity in the developing brain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 31(7):525 – 542, 2013.
- [F⁺24] Ronald Aylmer Fisher et al. The distribution of the partial correlation coefficient. *Metron*, 3:329–332, 1924.
- [FAJ14] Patriota A. Fujita A., Takahashi D. e Sato J.R. A non-parametric statistical test to compare clusters with applications in functional magnetic resonance imaging data. *Statistics in medicine*, 33(28):4949–4962, 2014.
- [FCI⁺14] Rosalux Falquez, Blas Couto, Agustin Ibanez, Martin T Freitag, Moritz Berger, Elisabeth A Arens, Simone Lang e Sven Barnow. Detaching from the negative by reappraisal: the role of right superior frontal gyrus (ba9/32). *Frontiers in behavioral neuroscience*, 8:1–16, 2014.
- [FCP⁺09] Damien A Fair, Alexander L Cohen, Jonathan D Power, Nico UF Dosenbach, Jessica A Church, Francis M Miezin, Bradley L Schlaggar e Steven E Petersen. Functional brain networks develop from a “local to distributed” organization. *PLoS computat biol*, 5(5):e1000381, 2009.
- [FDC⁺07] Damien A Fair, Nico UF Dosenbach, Jessica A Church, Alexander L Cohen, Shefali Brahmhatt, Francis M Miezin, Deanna M Barch, Marcus E Raichle, Steven E Petersen e Bradley L Schlaggar. Development of distinct control networks through segregation and integration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(33):13507–13512, 2007.
- [FDS07] Cohen A.L. Miezin F.M. Dosenbach N. Wenger K.K. Fox M.D. Snyder A.Z. Raichle M.E. Fair D.A., Schlaggar B.L. e Petersen S.E. A method for using blocked and event-related fmri data to study “resting state” functional connectivity. *Neuroimage*, 35(1):396–405, 2007.

- [FEM⁺09] Vladimir S Fonov, Alan C Evans, Robert C McKinstry, CR Almlí e DL Collins. Unbiased nonlinear average age-appropriate brain templates from birth to adulthood. *NeuroImage*, 47:S102, 2009.
- [FGB15] J.A. Tourville F.H. Guenther e J.W. Bohland. Speech production. 2:435–444, 2015.
- [FSH⁺07] Peter Fransson, Beatrice Skiöld, Sandra Horsch, Anders Nordell, Mats Blennow, Hugo Lagercrantz e Ulrika Åden. Resting-state networks in the infant brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(39):15531–15536, 2007.
- [Fus88] Joaquin M Fuster. *Prefrontal cortex*. Springer, 1988.
- [GBJ⁺99] Jay N Giedd, Jonathan Blumenthal, Neal O Jeffries, F Xavier Castellanos, Hong Liu, Alex Zijdenbos, Tomáš Paus, Alan C Evans e Judith L Rapoport. Brain development during childhood and adolescence: a longitudinal mri study. *Nature neuroscience*, 2(10):861–863, 1999.
- [GGL⁺04] Nitin Gogtay, Jay N Giedd, Leslie Lusk, Kiralee M Hayashi, Deanna Greenstein, A Catherine Vaituzis, Tom F Nugent, David H Herman, Liv S Clasen, Arthur W Toga et al. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America*, 101(21):8174–8179, 2004.
- [GMR09] Menon V. Greicius M.D., Supekar K. e Dougherty R.F. Resting-state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cerebral Cortex*, 19(1):72–78, 2009.
- [GS14] R GeethaRamani e K Sivaselvi. Human brain hubs (provincial and connector) identification using centrality measures. Em *Recent Trends in Information Technology (ICRTIT), 2014 International Conference on*, páginas 1–6. IEEE, 2014.
- [HGM15] L. Hernandez-Garcia e M. Muckley. Artifacts in functional mri and how to mitigate them. 1:231–243, 2015.
- [HJ06] P.S. Hüppi e Dubois J. Diffusion tensor imaging of brain development. Em *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, volume 11, páginas 489–497. Elsevier, 2006.
- [HK13] Park H. e Friston K. Structural and functional brain networks: from connections to cognition. *Science*, 342(6158):1238411, 2013.
- [HWW⁺09] Yong He, Jinhui Wang, Liang Wang, Zhang J Chen, Chaogan Yan, Hong Yang, Hehan Tang, Chaozhe Zhu, Qiyong Gong, Yufeng Zang et al. Uncovering intrinsic modular organization of spontaneous brain activity in humans. *PloS one*, 4(4):e5226, 2009.
- [J.87] Rousseeuw P. J. Silhouettes: a graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *Journal of computational and applied mathematics*, 20:53–65, 1987.
- [JDH15] Mark H Johnson e Michelle De Haan. *Developmental cognitive neuroscience: An introduction*. John Wiley & Sons, 2015.
- [JJ00] Shi J. e Malik J. Normalized cuts and image segmentation. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 22(8):888–905, 2000.

- [JKC11] J. DeLuca J.S. Kreutzer e B. Caplan. Cuneus. 1:756–757, 2011.
- [JP15] K.F. Jankowski e J.H. Pfeifer. Puberty, peers, and perspective taking: Examining adolescent self-concept development through the lens of social cognitive neuroscience. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 3:45–51, 2015.
- [JT10] Stiles J. e Jernigan T.L. The basics of brain development. *Neuropsychology review*, 20(4):327–348, 2010.
- [JvBCR13] Dietsje D Jolles, Mark A van Buchem, Eveline A Crone e Serge ARB Rombouts. Functional brain connectivity at rest changes after working memory training. *Human brain mapping*, 34(2):396–406, 2013.
- [K.13] Rubia K. Functional brain imaging across development. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 22(12):719–731, 2013.
- [KH07] Etienne Koechlin e Alexandre Hyafil. Anterior prefrontal function and the limits of human decision-making. *Science*, 318(5850):594–598, 2007.
- [KH15] K.C. Kadosh e S.P.W. Haller. The social brain in childhood and adolescence. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 3:171–175, 2015.
- [LaB15] K.S. LaBar. Emotion. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:619–624, 2015.
- [LAP11] Eickhoff S.B. Turner J.A. Ray K.L. McKay D.R. Glahn D.C. Beckmann C.F. Smith S.M. Laird A.R., Fox P.M. e Fox P.T. Behavioral interpretations of intrinsic connectivity networks. *Journal of cognitive neuroscience*, 23(12):4022–4037, 2011.
- [LJ09] Kaufman L. e Rousseeuw P. J. *Finding groups in data: an introduction to cluster analysis*, volume 344. John Wiley & Sons, 2009.
- [LLD11] Anderson J.S. Ferguson M.A. Lopez-Larson, Melissa P. e Yurgelun-Todd D. Local brain connectivity and associations with gender and age. *Developmental cognitive neuroscience*, 1(2):187–197, 2011.
- [LMS98] Mock B.J. Lowe M.J. e JA Sorenson. Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations. *Neuroimage*, 7(2):119–132, 1998.
- [LP90] Kaufman L. e Rousseeuw P.J. *Finding groups in data: an introduction to cluster analysis*, volume 344. John Wiley & Sons, 1990.
- [LW15] K.F. LaRocque e A.D. Wagner. The medial temporal lobe and episodic memory. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:317–323, 2015.
- [MAMB09] David Meunier, Sophie Achard, Alexa Morcom e Ed Bullmore. Age-related changes in modular organization of human brain functional networks. *Neuroimage*, 44(3):715–723, 2009.
- [ME10] Van Den Heuvel M.P e Pol Hilleke E.H. Exploring the brain network: a review on resting-state fmri functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20(8):519–534, 2010.

- [M.E11] Raichle M.E. The restless brain. *Brain Connectivity*, 1(1):3–12, 2011.
- [Men15] V. Menon. Salience network. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:597–611, 2015.
- [MLB10] David Meunier, Renaud Lambiotte e Edward T Bullmore. Modular and hierarchically modular organization of brain networks. *Frontiers in neuroscience*, 4:200, 2010.
- [MM15] B. Misić e A.R McIntosh. Effective connectivity. 1:587–592, 2015.
- [MMJ99] Bilaniuk L.T Hunter J.V Morriss M.C., Zimmerman R.A. e Haselgrove J.C. Changes in brain water diffusion during childhood. *Neuroradiology*, 41(12):929–934, 1999.
- [MWL10] Alexander C McFarlane, Peter C Williamson e Ruth A Lanius. Switching between executive and default mode networks in posttraumatic stress disorder: alterations in functional connectivity. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, 35(4):258, 2010.
- [NA02] Jordan M. e Weiss Y. Ng A. On spectral clustering: Analysis and an algorithm. *Advances in neural information processing systems*, 2:849–856, 2002.
- [O.11] Sporns O. The human connectome: a complex network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1224(1):109–125, 2011.
- [O.14] Sporns O. Contributions and challenges for network models in cognitive neuroscience. *Nature neuroscience*, 17(5):652–660, 2014.
- [P.05] Fransson P. Spontaneous low-frequency bold signal fluctuations: An fmri investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis. *Human brain mapping*, 26(1):15–29, 2005.
- [PBC⁺08] Christopher P Pawela, Bharat B Biswal, Younghoon R Cho, Dennis S Kao, Rupeng Li, Seth R Jones, Marie L Schulte, Hani S Matloub, Anthony G Hudetz e James S Hyde. Resting-state functional connectivity of the rat brain. *Magnetic Resonance in Medicine*, 59(5):1021–1029, 2008.
- [PBG⁺12] Jean-Baptiste Poline, Janis L Breeze, Satrajit Ghosh, Krzysztof Gorgolewski, Yaroslav O Halchenko, Michael Hanke, Christian Haselgrove, Karl G Helmer, David B Keator, Daniel S Marcus et al. Data sharing in neuroimaging research. *Frontiers in neuroinformatics*, 6, 2012.
- [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.
- [PH15] G.B. Pike e R.D. Hoge. Obtaining quantitative information from fmri. 1:29–35, 2015.
- [PJS10] Schlaggar B.L. Power J.D., Fair D.A. e Petersen S.E. The development of human functional brain networks. *Neuron*, 67(5):735–748, 2010.
- [Pri15] C.J. Price. Reading. 3:579–582, 2015.
- [P.W11] Stroman P.W. *Essentials of functional MRI*. CRC Press, 2011.

- [RBJ07] Newton A.T. Rogers B.P., Morgan V.L. e Gore J.C. Assessing functional connectivity in the human brain by fmri. *Magnetic Resonance Imaging*, 25(10):1347 – 1357, 2007.
- [RF01] Farrel R Robinson e Albert F Fuchs. The role of the cerebellum in voluntary eye movements. *Annual review of neuroscience*, 24(1):981–1004, 2001.
- [RLM98] G Rizzolatti, G Luppino e M Matelli. The organization of the cortical motor system: new concepts. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 106(4):283–296, 1998.
- [Sch15] W. Schultz. Reward. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:643–651, 2015.
- [SL08] Amir Shmuel e David A Leopold. Neuronal correlates of spontaneous fluctuations in fmri signals in monkey visual cortex: implications for functional connectivity at rest. *Human brain mapping*, 29(7):751–761, 2008.
- [SMM09] Kaustubh Supekar, Mark Musen e Vinod Menon. Development of large-scale functional brain networks in children. *PLoS Biol*, 7(7):e1000157, 2009.
- [SPG08] Calhoun V.D. Hampson M. Skudlarska B.A. Skudlarski P., Jagannathan K. e Pearlson G. Measuring brain connectivity: Diffusion tensor imaging validates resting state temporal correlations. *NeuroImage*, 43(3):554 – 561, 2008.
- [Spo11] Olaf Sporns. *Networks of the Brain*. MIT press, 2011.
- [SPT⁺03] Elizabeth R Sowell, Bradley S Peterson, Paul M Thompson, Suzanne E Welcome, Amy L Henkenius e Arthur W Toga. Mapping cortical change across the human life span. *Nature neuroscience*, 6(3):309–315, 2003.
- [SSG⁺15] João Ricardo Sato, Giovanni Abrahão Salum, Ary Gadelha, Gilson Vieira, André Zugman, Felipe Almeida Picon, Pedro Mario Pan, Marcelo Queiroz Hoexter, Mauricio Anés, Luciana Monteiro Moura et al. Decreased centrality of subcortical regions during the transition to adolescence: a functional connectivity study. *Neuroimage*, 104:44–51, 2015.
- [STL⁺04] Elizabeth R Sowell, Paul M Thompson, Christiana M Leonard, Suzanne E Welcome, Eric Kan e Arthur W Toga. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children. *The Journal of neuroscience*, 24(38):8223–8231, 2004.
- [T.10] Paus T. Growth of white matter in the adolescent brain: myelin or axon? *Brain and cognition*, 72(1):26–35, 2010.
- [TCG15] W. Sedley T.E. Cope e T.D. Griffiths. Disorders of audition. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:1095–1112, 2015.
- [tD15] H.J. ten Donkelaar. Development of the brain stem and the cerebellum. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:377–385, 2015.
- [TKI15] Guntin J. Saad J. Sun Z. Claiborne T. Thulborn K., Lui E. e Atkinson I.C. Quantitative sodium mri of the human brain at 9.4 t provides assessment of tissue sodium concentration and cell volume fraction during normal aging. *NMR in Biomedicine*, 2015.

- [U.07] Luxburg U. A tutorial on spectral clustering. *Statistics and computing*, 17(4):395–416, 2007.
- [vdHMH10] van den Heuvel M.P. e Hulshoff Pol H.E. Exploring the brain network: A review on resting-state fmri functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20(8):519 – 534, 2010.
- [vdHMO13] van den Heuvel M.P. e Sporns O. Network hubs in the human brain. *Trends in cognitive sciences*, 17(12):683–696, 2013.
- [vdHS13] Martijn P van den Heuvel e Olaf Sporns. Network hubs in the human brain. *Trends in cognitive sciences*, 17(12):683–696, 2013.
- [VDKR12] Sabuncu M.R. Van Dijk K. e Buckner R.L. The influence of head motion on intrinsic functional connectivity mri. *Neuroimage*, 59(1):431–438, 2012.
- [VG15] R. Vandenberghe e CR. Gillebert. Visuospatial attention. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*, 2:529–535, 2015.
- [Vid14] Maciel Calebe Vidal. Análise da estrutura de clusterização das redes de conectividade funcional do cérebro para investigar as bases das desordens do espectro autista. 2014.
- [WWP⁺10] Shih-Jen Weng, Jillian Lee Wiggins, Scott J Peltier, Melisa Carrasco, Susan Risi, Catherine Lord e Christopher S Monk. Alterations of resting state functional connectivity in the default network in adolescents with autism spectrum disorders. *Brain research*, 1313:202–214, 2010.
- [YPN⁺11] Tal Yarkoni, Russell A Poldrack, Thomas E Nichols, David C Van Essen e Tor D Wager. Large-scale automated synthesis of human functional neuroimaging data. *Nature methods*, 8(8):665–670, 2011.
- [YY95] Benjamini Y. e Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society.*, páginas 289–300, 1995.