SERVIÇO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO ICMC-USP
Data de Depósito: 07/04/2005
Assinatura:

**Seleção de características em SVMs aplicadas a
dados de expressão gênica**

Bruno Feres de Souza

Orientador: Prof. Dr. André Carlos Ponce de Leon Ferreira de Carvalho

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação - ICMC-USP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências de Computação e Matemática Computacional.

USP – São Carlos
Abril/2005

Aluno: Bruno Feres de Souza

A Comissão Julgadora:

Prof. Dr. André Carlos Ponce de Leon Ferreira de Carvalho

Prof. Dr. Alexandre Claudio Botazzo Delbem

Prof. Dr. Roberto Marcondes Cesar Junior

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus por tudo e, em especial, pelas oportunidades que me tem concedido e pelas pessoas que tem posto em meu caminho.

Agradeço a meus pais e irmãos por, mesmo longe, estarem sempre comigo. Por seu apoio, amor, amizade, conselhos e dedicação. São eles que, diariamente, acreditam em mim e me ajudam a superar as dificuldades. Muito obrigado!

Agradeço ao Prof. André, meu orientador nesta jornada, por nunca me deixar desanimar e por ter ensinado, através do exemplo, o que é ser um bom pesquisador (não que eu tenha aprendido completamente, mas eu tento). Sou grato por sua infinita paciência e compreensão. Certamente, ele é agora parte importante de mim e do que vou ser.

Durante o mestrado, fiz novas amizades e fortaleci antigas. Hoje, eu me considero uma pessoa melhor por causa desses amigos. Especialmente, sou grato a Fernando, que concordou em deixar a sempre saudosa São Luís e vir estudar em São Carlos. É uma pessoa que eu admiro profundamente. Ele foi, é, meu companheiro em todos os momentos, felizes ou nem tanto. Valeu!

Várias outras pessoas fizeram a diferença e agradeço muitíssimo por tê-las conhecido. Sou grato à Jac, ao Leo Killer, ao Popi, ao Eduardão, ao Daniboy, ao Nilson, ao Cesár, ao Waldo, ao Jean, ao Fodra, ao Rodrigo, ao Balan, ao Magoo, ao Adriano, à Cris, à Karen, ao Japa, ao Marcelo, ao Douglas, ao Robertão, ao Camillo, e a muitos outros amigos, por estarem sempre comigo.

Agradeço a todos os professores e funcionários do ICMC, por tudo que eu aprendi e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Agradeço à CAPES, pelo suporte financeiro essencial a este trabalho.

Resumo

Recentemente, diversas tecnologias de análise de expressão gênica têm sido introduzidas. Os *microarrays* estão entre as mais utilizadas. Dentre suas aplicações mais comuns, pode-se destacar a classificação de amostras de tecido, essencial para a identificação correta do tipo de câncer. Esta classificação é realizada com a ajuda de algoritmos de Máquina (AM), como as Máquinas de Vetores de Suporte, ou simplesmente SVMs. Uma particularidade dos dados de expressão gênica é que a quantidade de amostras utilizadas pelo algoritmo de aprendizado é, normalmente, muitas vezes inferior à quantidade de características consideradas, o que pode deteriorar o desempenho dos algoritmos de AM e dificultar a compreensão dos dados. Neste contexto, o presente trabalho visa à comparação de diversas técnicas de seleção de características (SC) em SVMs aplicadas a dados *microarrays*. Além disso, durante a pesquisa, foram desenvolvidas 2 novas técnicas de SC baseadas em algoritmos genéticos. Os experimentos demonstram que a maioria das técnicas testadas é capaz de reduzir sobremaneira a dimensionalidade dos dados de expressão gênica sem prejudicar o desempenho das SVMs.

Abstract

Recently, a lot of large scale gene expression analysis technologies have been introduced. Microarrays are among the most used ones. Among their most common applications, one can highlight the classification of tissue samples, which is essential to the correct identification of the cancer type. This classification is carried out by Machine Learning (ML) algorithms, like the Support Vector Machines (SVMs). Gene expression data are characterized by an disproportionate rate between the number of tissue samples and the dimensionality of the domain, which can hurt the performance of the ML algorithms. In this context, the present work wish to compare several feature selection techniques in SVMs applied to microarray data. Besides, during this research, 2 new techniques based on genetic algorithms for selecting genes were developed. The experiments showed that most of the tested techniques was able to gratefully reduce the dimensionality of the gene expression data without degradation of SVM performance.

Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
Sumário	iii
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	ix
1 Introdução	1
1.1 Contexto	1
1.2 Motivação	3
1.3 Objectivos	5
1.4 Organização da dissertação	6
2 Análise de Expressão Gênica	7
2.1 Considerações Iniciais	7
2.2 Conceitos biológicos	7
2.2.1 Células	7
2.2.2 Cromossomos, DNA e genes	9
2.2.3 Proteínas e expressão gênica	10
2.3 Técnicas de Análise de Expressão Gênica	12
2.3.1 <i>Microarrays</i>	13
2.3.2 <i>Serial Analysis of Gene Expression</i> - SAGE	18
2.3.3 <i>Massive Parallel Signature Sequencing</i> - MPSS	19
2.4 Considerações finais	20
3 Máquinas de Vetores de Suporte	22
3.1 Considerações Iniciais	22

3.2	Teoria do Aprendizado Estatístico	23
3.3	Máquinas de Vetores de Suporte	26
3.3.1	SVMs Lineares para Dados de Classes Linearmente Separáveis . . .	26
3.3.2	SVMs Lineares para Dados de Classes Não-linearmente Separáveis .	31
3.3.3	SVMs Não-lineares	34
3.4	Considerações Finais	36
4	Seleção de Características em Dados de <i>microarray</i>	37
4.1	Considerações Iniciais	37
4.2	O Problema da Seleção de Características	38
4.3	Características dos Algoritmos de SC	40
4.3.1	Ponto(s) de Início da Busca e Geração dos Subconjuntos	41
4.3.2	Estratégia da Busca	41
4.3.3	Estratégia de Avaliação	42
4.3.4	Critério de Parada	43
4.4	Filtros	43
4.4.1	Golub	45
4.4.2	<i>Threshold Number of Misclassification</i> - TNoM	46
4.4.3	Info	46
4.4.4	Taxa de Ganho	48
4.4.5	Wilcoxon	49
4.4.6	ReliefF	50
4.4.7	<i>Correlation-Based Feature Selection</i> -CFS	51
4.4.8	Filtro de Consistência	52
4.5	<i>Wrappers</i>	53
4.5.1	<i>Recursive Feature Elinination</i> - RFE	55
4.5.2	<i>Approximation of the zero-norm Minimization</i> - AROM	56
4.6	Algoritmos Genéticos para Seleção de Genes	57
4.6.1	Filtro	59
4.6.2	<i>Wrapper</i>	62
4.7	Considrações Finais	64

5 Experimentos	65
5.1 Considerações Iniciais	65
5.2 Metodologia	65
5.2.1 Descrição Geral	65
5.2.2 Teste estatístico	67
5.2.3 Métodos e seus parâmetros	68
5.2.4 Objetivos	70
5.3 Bases de dados	71
5.4 Resultados Experimentais	73
5.4.1 Leucemia	74
5.4.2 Linfoma	76
5.4.3 Cólon	77
5.4.4 Glioma	81
5.4.5 Mama	82
5.5 Genes Seleccionados	84
5.6 Considerações finais	87
6 Conclusão e Trabalhos Futuros	89
6.1 Contribuições	90
6.2 Trabalhos Futuros	90
Referências Bibliográficas	92

Lista de Figuras

2.1	Exemplos de células genéricas. Imagens adaptadas de (Lodish et al., 1999)	8
2.2	Representação de molécula de DNA. Imagem extraída de (Filho, 2003).	9
2.3	Proceso de expressão gênica. Adaptado de (Casley, 1992).	13
2.4	<i>Microarray</i> de DNA complementar. Imagens adaptadas de (Harrington et al., 2000)	16
2.5	<i>Microarray</i> de DNA complementar. Imagens adaptadas de (Harrington et al., 2000)	17
3.1	Ilustração da Minimização Estrutural de Risco. O valor ótimo para k (k^*) é determinado por um equilíbrio entre o termo de confiança e a quantidade de erros obtidos no conjunto de treinamento.	26
3.2	Conjunto linearmente separável, o hiperplano separador e a regra de decisão.	27
3.3	Vários hiperplanos são capazes de separar dados de classes linearmente separáveis.	28
3.4	Hiperplanos canônicos e os vetores de suporte.	29
3.5	Margem de separação.	29
3.6	Conjunto de dados de classes não-linearmente separáveis.	32
3.7	Variáveis de folga ξ_i	33
3.8	Conjunto de dados não-linear	34
3.9	Mapeamento Espaço de entrada - Espaço de saída.	35
4.1	Seleção de características como um problema de busca Blum e Langley (1997)	40
4.2	Seleção de características baseada em filtros.	44
4.3	Pseudo-código do ReliefF.	51
4.4	Seleção de características baseada em <i>wrappers</i> .	54
4.5	Fluxograma de um AG simples. Adaptado de (Deb e Kalyanmoy, 2001)	58

5.1	Metodologia utilizada nos experimentos.	66
-----	---	----

Lista de Tabelas

1.1	Principais objetivos do PGH (Collins et al., 2003)	2
2.1	Mapeamento entre códons e aminoácidos. Tabela extraída de (Lodish et al., 1999).	12
3.1	Principais <i>kernels</i>	36
4.1	2 exemplos de uma base de dados representados por 4 características. . . .	52
5.1	Parâmetros utilizados pelas 2 versões do AG-Filtro	69
5.2	Parâmetros utilizados pelo AG-SVM	70
5.3	Descrição numérica das bases de dados	73
5.4	Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de leucemia.	75
5.5	Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de leucemia.	75
5.6	Comparação entre os métodos propostos. Base de leucemia	76
5.7	Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de linfoma.	78
5.8	Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de linfoma.	78
5.9	Comparação entre os métodos propostos. Base de linfoma.	79
5.10	Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de cólon. .	80
5.11	Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de cólon.	80
5.12	Comparação entre os métodos propostos. Base de cólon.	81
5.13	Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de glioma.	82
5.14	Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de glioma.	83
5.15	Comparação entre os métodos propostos. Base de glioma.	83
5.16	Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de mama.	84
5.17	Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de mama.	85
5.18	Comparação entre os métodos propostos. Base de mama.	85

5.19 Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de leucemia. 86

5.20 Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de linfoma. 86

5.21 Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de cólon. 86

5.22 Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de glioma. 87

5.23 Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de mama. 87

Introdução

1.1 Contexto

Os seres vivos podem ser considerados conjuntos de elementos organizados em uma sucessão de níveis de complexidade (Lodish et al., 1999). Por exemplo, os organismos contêm órgãos; os órgãos são compostos de tecidos; os tecidos são constituídos de células; e as células são formadas por diversos tipos de moléculas. Nesta cadeia, as células são tidas como as unidades biológicas mínimas, onde a maioria dos processos metabólicos acontece. A coordenação de todas as atividades do complexo aparato celular é realizada pelos genes.

Os genes são os fatores responsáveis pela hereditariedade, ou seja, por determinar as características de uma espécie através das gerações, assim como por codificar os traços específicos dos indivíduos (Casley, 1992). Eles também são responsáveis por codificar as informações essenciais para a manutenção da dinâmica celular. Para melhor compreender como eles realizam todas essas tarefas, é preciso conhecer sua composição. Quimicamente, os genes são seqüências contíguas de ácido desoxirribonucleico (DNA) (Hunter, 1993). Cada molécula de DNA é formada por uma seqüência de estruturas chamadas nucleotídeos.

Embora as moléculas de DNA sejam relativamente simples e bem compreendidas estruturalmente, até recentemente pouco se sabia acerca da seqüência completa de nucleotídeos dos genomas (um genoma é o conjunto de todos os genes de um organismo) em geral e em especial do ser humano. Esta carência foi suprida com o desenvolvimento de diversos projetos de seqüenciamento genômico, dentre os quais o mais conhecido é o Projeto Genoma Humano (PGH)¹

Em abril de 2003, foi anunciada a conclusão do PGH (Collins et al., 2003). Os principais objetivos previamente estabelecidos foram cumpridos, conforme pode ser visto na

¹Embora apenas o PGH seja citado aqui, a empresa *Celera Genomics* também conseguiu sequenciar o genoma humano (Venter et al., 2001).

Tabela 1.1 e agora o foco das pesquisas passou a ter um caráter mais qualitativo, passando do simples armazenamento de dados biológicos para a análise dos mesmos.

Área	Objetivo	Realizado	Data
Mapeamento genético	Mapa de resolução de 2 a 5 Centimorgans	Mapa de resolução de 1 Centimorgans	09/1994
Mapeamento físico	30.000 <i>sequence-tagged sites</i>	52.000 <i>sequence-tagged sites</i>	10/1998
Seqüência de DNA	Conclusão com 99,99% de acurácia de 95% da seqüência genômica que contém genes	Conclusão com 99,99% de acurácia de 98% da seqüência genômica que contém genes	04/2003
Capacidade e custo da seqüência finalizada	500 milhões de bases/ano a <\$0,25 a base	>1.400 milhões de bases/ano a <\$0,09 a base	11/2002
Variação da seqüência humana	100.000 <i>single nucleotide polymorphisms</i> mapeados	3,7 milhões de <i>single nucleotide polymorphisms</i> mapeados	02/2003
Identificação de genes	DNA complementares humanos completos	15.000 DNAs complementares completos	03/2003
Organismos modelo	Seqüências de <i>E. Coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. elegans</i> , <i>D. melanogaster</i>	Seqüências de <i>E. coli</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. elegans</i> , <i>D. melanogaster</i> , e versões preliminares de outros organismos	04/2003
Análise Funcional	Desenvolver tecnologias de escala genômica	Síntese de oligonucleotídeos em larga escala	1994
		<i>Microarrays</i> de DNA	1996
		Bibliotecas normalizadas e corrigidas de DNA complementar	1996
		Manipulação genética do genoma inteiro de eucariotes (levedura)	1999
		Desenvolvimento em larga escala de sistemas híbridos para a interação entre proteínas	2002

Tabela 1.1: Principais objetivos do PGH (Collins et al., 2003)

No contexto da era pós-genômica, Collins et al. (2003) vislumbraram a influência do conhecimento obtido com o seqüenciamento dos genomas nas áreas sociais, da biologia e da saúde e propuseram aos cientistas, para os próximos anos, alguns desafios. Para a área da saúde, os desafios são:

1. a identificação da contribuição genética à ocorrência de doenças e à resposta a medicamentos;

2. a identificação de variantes de genes que contribuam para manutenção da saúde e para a resistência a doenças;
3. o desenvolvimento de abordagens para estimar a suscetibilidade a doenças e a medicamentos, a detecção precoce de doenças e a distinção molecular de estados patológicos;
4. o desenvolvimento de novas terapias genéticas;
5. a investigação de como integrar a informação relativa a riscos genéticos ao cotidiano clínico e;
6. o desenvolvimento de ferramentas que ajudem a melhorar os serviços de saúde

1.2 Motivação

Os dados gerados pelo PGH têm permitido aos cientistas identificar um grande número de genes a partir de seqüências antes desconhecidas de DNA. Uma das maneiras mais utilizadas de analisar esses novos genes é medir seus níveis de expressão. Com isso, pode-se estimar o quanto o gene influencia no funcionamento de uma célula em um dado momento e sob uma circunstância específica.

Para lidar com a grande quantidade de genes descobertos, várias tecnologias têm sido desenvolvidas. As mais comuns são os *microarrays* (Scherer, 1999), que permitem monitorar simultaneamente os níveis de expressão de milhares genes. Por meio da comparação das expressões gênicas de diferentes tipos de tecidos, condições clínicas ou organismos, os *microarrays* têm auxiliado a elucidar as funções dos genes e suas interações, assim como ajudado no diagnóstico de doenças e na verificação de resposta a medicamentos (Sharan et al., 2002).

Os experimentos em larga escala envolvendo expressão gênica representam um grande desafio computacional, à medida que um enorme conjunto de dados deve ser considerado (Ermolaeva et al., 1998). Entretanto, na maior parte dos casos, o tipo de análise realizada envolve extrair padrões dos dados e entender seus significados. Desta forma, é pertinente falar-se da extração automática de conhecimento através de técnicas de Aprendizado de Máquina como solução viável.

O Aprendizado de Máquina (AM) (Michalski et al., 1983) é um campo de pesquisa da Inteligência Artificial que estuda o desenvolvimento de métodos capazes de extrair

conceitos (conhecimento) a partir de amostras de dados. Em experimentos envolvendo *microarrays*, é comum utilizar AM tanto no paradigma de aprendizado não-supervisionado quanto no supervisionado. A diferença básica entre os 2 paradigmas concerne à disponibilidade *a priori* da classe ou categoria a que pertence cada amostra de dado. No primeiro caso, as classes são especificadas enquanto que no outro não. Detalhes sobre ambas abordagens podem ser encontradas em (Theodoridis e Koutroumbas, 1999).

Em dados de expressão gênica, o enfoque dos algoritmos de AM supervisionados normalmente está em identificar novos subgrupos de entidades biológicas (Golub et al., 1999a) ou realizar agrupamento de genes com a finalidade de inferir suas funções (Eisen et al., 1998). Nos algoritmos supervisionados, a intenção é classificar genes ou amostras de tecido em classes conhecidas (Brown et al., 2000) (Golub et al., 1999a).

Nesta dissertação, será considerado o paradigma supervisionado para a classificação de amostras de tecidos cancerosos com base em seus níveis de expressão gênica. O interesse nesse tema foi suscitado por seu possível impacto no diagnóstico e tratamento do câncer e pela participação do autor deste trabalho no Projeto Genoma Clínico do Câncer, financiado pela FAPESP.

Em abordagens tradicionais, a classificação de tumores é baseada primariamente em sua aparência morfológica (Golub et al., 1999a) e no tecido onde a doença se originou (Slonim et al., 2000). Entretanto, não há garantias de que tumores parecidos tenham o mesmo desenvolvimento clínico e, por conseguinte, exijam o mesmo tipo de tratamento. Assim, o estudo de técnicas que permitam determinar o tipo correto de câncer de uma amostra com uma maior taxa de acerto é essencial.

Para prover um maior entendimento da amostra estudada e tentar promover uma classificação mais acurada de tumores, Golub et al. (1999a) utilizaram dados do nível de expressão gênica provenientes de *microarrays*. Em seus experimentos, o metabolismo de células pertencentes a dois tipos de tumores foi analisado e um padrão pôde ser aprendido. Com isso, foi possível classificar novas amostras doentes utilizando-se apenas seus níveis de expressão gênica.

Após o trabalho pioneiro de Golub, houve grande interesse na classificação de amostras de tecidos utilizando dados de expressão gênica (Mukherjee et al., 1999) (Slonim et al., 2000) (Ben-Dor et al., 2000a) e vários algoritmos de AM foram utilizados para essa tarefa. Dentre os mais promissores, destacam-se as Máquinas de Vetores de Suporte.

As Máquinas de Vetores de Suporte (SVMS, do inglês *Support Vector Machines*) (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000a) são um método de aprendizado supervisionado baseado no trabalho de Vapnik e Chervonenkis (Vapnik e Chervonenkis, 1964). Elas aprendem delineando, a partir de exemplos, uma fronteira ótima que separa elementos de duas classes distintas. Com isso, uma regra de classificação linear gerada em um espaço de alta dimensionalidade pode ser aplicada para determinar a classe de novos elementos. Esta técnica tem sido utilizada com sucesso em diversas aplicações de bioinformática² (Guyon et al., 2002) (Ding e Dubchak, 2001) (Joel et al., 2001).

As grandes vantagens das SVMs são seu poder de generalização, ou seja, sua eficiência para classificar dados não vistos durante a fase de aprendizado do algoritmo, e sua robustez para dados de grande dimensão, como os oriundos de experimentos de *microarrays*.

Entretanto, mesmo com essas vantagens, vários estudos sugerem que esses algoritmos podem se beneficiar de uma redução na quantidade de característica a serem consideradas (Weston et al., 2000) (Zhang e Liu, 2002), principalmente no domínio de dados de expressão gênica, onde milhares de genes (características para as SVMs) estão disponíveis e possivelmente nem todos participam do processo biológico estudado.

1.3 Objetivos

Para realizar a redução de dimensionalidade, será dada ênfase às técnicas de seleção de características (Theodoridis e Koutroumbas, 1999). A seleção de características pode ser entendida como um processo que escolhe um subconjunto ótimo de características de acordo com um certo critério. Alguns dos benefícios desta prática podem ser listados (Lin e Motoda, 1998a) (Hall, 1999):

1. menor quantidade de dados requerida para o aprendizado;
2. menor processamento e conseqüente diminuição no tempo de execução do algoritmo de AM;
3. melhora do desempenho do classificador e;
4. a possibilidade de um melhor entendimento do conhecimento aprendido.

O presente trabalho tem como objetivo principal comparar diversas técnicas de seleção de características para SVMs aplicadas a bases reais de expressão gênica provenientes

²Bioinformática consiste, genericamente, na aplicação de ferramentas computacionais para ajudar a resolver os problemas da Biologia Molecular.

de experimentos de *microarrays*. Outro objetivo é propor novas técnicas baseadas em Algoritmos Genéticos (Goldberg, 1989) para selecionar subconjuntos de genes otimizados para o problema em estudo.

1.4 Organização da dissertação

O restante do trabalho será dividido conforme segue. No Capítulo 2, são introduzidas algumas tecnologias utilizadas para a análise de expressão gênica em larga escala. No Capítulo 3, as bases teóricas das SVMs são apresentadas. No Capítulo 4, é considerado o problema da seleção de características, assim como sua aplicação em dados de expressão gênica e sua relevância para as SVMs. As técnicas propostas também são detalhadas neste capítulo. No Capítulo 5, os experimentos conduzidos são descritos e os resultados são analisados. Por fim, no Capítulo 6, algumas considerações finais são tecidas e melhoramentos e trabalhos futuros são sugeridos.

Análise de Expressão Gênica

2.1 Considerações Iniciais

Recentemente, considerável esforço tem sido despendido para uma maior compreensão dos seres vivos, do ponto de vista biológico. Uma prova disso são os diversos projetos de sequenciamento genômico, que visam a construção de mapas genômicos das espécies estudadas.

Estes empreendimentos têm gerado uma enorme quantidade de dados. Por exemplo, o Projeto Genoma Humano estima que o ser humano possua cerca de 30.000 genes que codificam proteínas (Collins et al., 2003). Entretanto, o simples fato de estes dados já serem conhecidos e disponíveis não é de grande valia enquanto eles não forem analisados.

Para auxiliar na realização das análises devidas, diversas tecnologias têm sido empregadas. Aquelas que permitem medir os níveis de expressão de milhares de genes simultaneamente estão entre as mais utilizadas. Neste contexto, técnicas como *microarrays* (Schena, 1999), SAGE (Velculescu et al., 1995) e MPSS (Brenner et al., 2000a) têm ajudado os cientistas a compreender melhor como os sistemas biológicos funcionam, permitindo, com isso, avanços em diversas áreas, como a medicina, a biologia e a agricultura, entre outras (Casey, 2001).

Este capítulo visa fornecer ao leitor uma visão geral sobre essas novas ferramentas. Para tanto, inicialmente, alguns conceitos básicos de biologia molecular são apresentados.

2.2 Conceitos biológicos

2.2.1 Células

Todos os seres vivos são formados por unidades básicas denominadas células (Okura, 2002). Elas correspondem a compostos estruturais e funcionais onde a maioria dos processos metabólicos acontece.

Fisicamente, as células são constituídas de uma membrana externa, conhecida como membrana plasmática, que define seus limites e mantém as diferenças essenciais entre os meios interno e externo, e do citoplasma, onde estão difusas as diversas organelas celulares. Há também uma região nuclear, responsável por parte do material genético. Neste ponto, é comum fazer uma diferenciação entre organismos procariontes e eucariontes (Lodish et al., 1999). Os primeiros não possuem uma membrana de separação nítida entre o citoplasma e a região nuclear e apresentam uma organização interna mais simples. Os segundos possuem uma estrutura interna mais complexa, inclusive com uma membrana bem definida envolvendo a região nuclear.

Como exemplos de organismos procariontes, pode-se citar as bactérias. Já plantas e animais são organismos eucariontes. Para ilustrar a diferença entre estes 2 tipos de organização celular, a Figura 2.1 mostra micrografias eletrônicas de células genéricas de eucariontes e procariontes, com destaque para algumas estruturas celulares.

Figura 2.1: Exemplos de células genéricas. Imagens adaptadas de (Lodish et al., 1999)

Cada estrutura da célula é responsável pela execução de funções específicas (Lodish et al., 1999) (Hunter, 1993). A seguir, tem-se algumas estruturas e a descrição de suas funções:

1. lisossomos: atuam na digestão de componentes celulares desgastados e de certas substâncias extra-celulares;
2. mitocôndria: cuida da produção de energia a partir do consumo de oxigênio;
3. complexo de Golgi: tem como principal função a secreção de substâncias;
4. retículo endoplasmático: responsável pela síntese de glico-proteínas e lipídios;
5. ribossomos: realizam a síntese de proteínas;
6. núcleo e nucleóide: responsáveis por abrigar o material genético das células. O

núcleo é encontrado em seres eucariontes e o nucleóide em seres procariontes.

A coordenação e regulação de todas as atividades do aparato celular é de responsabilidade dos genes.

2.2.2 Cromossomos, DNA e genes

Os genes correspondem às unidades físicas e funcionais responsáveis pelos traços hereditários dos organismos vivos (Casley, 1992). Eles foram primeiramente investigados por Mendel no final do século 19 (eles foram reconhecidos, naquele trabalho, como fatores que passam, sem serem modificados, do progenitor para a progênie), em seus experimentos com cruzamento de ervilhas (Mendel, 1865). Várias décadas depois, descobriu-se os chamados cromossomos, que, observou-se, eram transmitidos de pai para filho. Este fato suscitou a idéia de que os cromossomos carregariam a informação genética (Silva, 2001). O interesse pelos cromossomos resultou na posterior descoberta de que eles são compostos por moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) e que os genes são, de fato, segmentos contíguos de uma molécula de DNA onde estão armazenadas as informações genéticas (Hunter, 1993).

Uma molécula de DNA consiste de duas cadeias complementares entrelaçadas em uma estrutura que lembra uma dupla hélice (Casley, 1992). Cada cadeia é composta por uma sequência de unidades químicas simples, chamadas de nucleotídeos. Estes são formados de fosfato, açúcar (do tipo desoxirribose) e uma das quatro bases: Adenina (A), Guanina (G), Citosina (C) e Timina (T) (Shamir et al., 2002a). A ligação entre os nucleotídeos de cadeias complementares de DNA é realizada pela regra: a base A se liga com a base T, e a base C com a base G, conforme ilustrado na Figura 2.2.

Figura 2.2: Representação de molécula de DNA. Imagem extraída de (Filho, 2003).

2.2.3 Proteínas e expressão gênica

A razão pela qual se diz que os genes controlam o metabolismo de uma célula está intimamente relacionada com o fato de eles codificarem proteínas. Em outras palavras, os genes contêm as informações necessárias para que um maquinário celular consiga sintetizar proteínas (Lodish et al., 1999). Proteínas são os principais blocos estruturais e funcionais da célula, correspondendo a aproximadamente de 15 a 20% de seu peso total (Hunter, 1993). Elas são formadas por unidades conhecidas como aminoácidos, que se ligam linearmente, resultando em uma cadeia chamada de polipeptídeo. As funções das proteínas são diversas, dentre as quais pode-se destacar (Hunter, 1993) (Casley, 1992):

1. catalisadora de reações bioquímicas, por meio das proteínas enzimáticas;
2. estrutural, como no caso do colágeno responsável pela conexão entre os ossos e os tecidos e;
3. de manutenção do ambiente celular, regulando a passagem de moléculas entre a célula e o meio externo.

A fabricação de proteínas acontece em, basicamente, duas etapas: a transcrição e a tradução (Silva, 2001). Na primeira, uma molécula de RNA (ácido ribonucleico) é sintetizada a partir de uma das cadeias de DNA (Okura, 2002).

O RNA é uma sequência de nucleotídeos similar ao DNA. As principais diferenças entre ambos são (Shamir et al., 2002b):

1. o RNA é uma molécula de cadeia simples;
2. a base Timina é substituída pela base Uracila;
3. o açúcar utilizado é do tipo ribose e;
4. as moléculas de RNA podem ser facilmente encontradas diluídas no citoplasma.

Há 3 tipos de moléculas de RNA (Silva, 2001):

1. o RNAm (mensageiro), que contém a sequência que codifica uma proteína;
2. o RNAt (transportador), que carrega os aminoácidos até os ribossomos e;
3. o RNAr (ribossômico), que faz parte dos ribossomos.

A transcrição ocorre por meio da ação de uma enzima chamada RNA polimerase aplicada a locais específicos da sequência de DNA, conhecidos como promotores, que informam onde a transcrição terá início. O processo pode ser descrito, de forma geral, como segue: inicialmente, a RNA polimerase reconhece o promotor na sequência de DNA e liga-se a ele através de certos fatores transcricionais (Shamir et al., 2002b). Em seguida,

a RNA polimerase desliza pela cadeia de DNA, sintetizando uma molécula de RNAm base a base, respeitando a complementaridade das bases (ver Figura 2.2 e o parágrafo anterior). O processo tem fim quando a enzima encontra um trecho do DNA conhecida como terminador (Silva, 2001).

A transcrição ocorre de forma diferente em organismos eucariontes e procariontes. Nestes, a molécula de RNAm será diretamente utilizada para a produção de proteínas, enquanto que naqueles, ela sofre uma série de modificações antes de ser traduzida (Okura, 2002). A principal modificação ocorre por meio do processo de *splicing*, pelo qual seqüências não codificadoras de proteínas são removidas da molécula de RNAm (Silva, 2001).

Na outra etapa, a tradução, a informação contida no RNAm recém-sintetizado é utilizada para dar origem a moléculas de proteína. Isto é feito da seguinte maneira (Shamir et al., 2002a): 3 nucleotídeos adjacentes do RNAm são responsáveis por codificar um aminoácido, que é parte constituinte das proteínas. Esta tripla é chamada de códon. O códon que especifica o início da tradução é o (A, U e G). O mapeamento entre os códons e os aminoácidos codificados pode ser visto na Tabela 2.1. Em seguida, a molécula de RNAm se dirige ao ribossomo que, juntamente com o RNAr, realiza a síntese de proteínas a partir dos códons. O processo termina quando os chamados códons de parada são encontrados. As regras pelas quais a seqüência de nucleotídeos de um gene forma a seqüência de aminoácidos das proteínas são conhecidas como Código Genético (Shamir et al., 2002a).

Ao processo pelo qual o Código Genético é convertido em estruturas operantes na célula dá-se o nome de expressão gênica (Casley, 1992). São considerados expressos os genes transcritos em RNAm e depois traduzidos em proteínas e aqueles que são transcritos em outros tipos de RNA (como o RNAt) e que não são traduzidos. O processo de expressão gênica, cujo produto final são as proteínas, é esquematizado na Figura 2.3

É importante ressaltar que durante o processo de expressão gênica, o nível de RNAm de uma célula em particular representa a atividade metabólica de um gene específico. Assim, pode-se entender melhor o papel dos genes de uma célula em um dado momento e sob uma determinada circunstância observando-se seus níveis de expressão.

Com base no que foi exposto, a comparação entre padrões de expressões gênicas por meio da medição dos níveis de RNA mensageiro em células normais e doentes pode fornecer importantes indícios sobre o desenvolvimento de determinados estados patológicos, assim

Posição 1	Posição 2				Posição 3
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tir	Cis	U
U	Phe	Ser	Tir	Cis	C
U	Leu	Ser	-	-	A
U	Leu	Ser	-	Tri	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
C	Leu	Pro	His	Arg	C
C	Leu	Pro	Glu	Arg	A
C	Leu	Pro	Glu	Arg	G
A	Iso	Tre	Asp	Ser	U
A	Iso	Tre	Asp	Ser	C
A	Iso	Tre	Lis	Arg	A
A	Met	Tre	Lis	Arg	G
G	Val	Ala	Aca	Gli	U
G	Val	Ala	Aca	Gli	C
G	Val	Ala	Acg	Gli	A
G	Val	Ala	Acg	Gli	G

Tabela 2.1: Mapeamento entre códons e aminoácidos. Tabela extraída de (Lodish et al., 1999).

como informações que podem levar a um melhor diagnóstico e tratamento mais eficaz.

Para que isso seja factível, é desejável lidar com os genes implicados no desenvolvimento do estado em questão. Contudo, na maioria dos casos, ainda não são conhecidos com exatidão quais genes estão envolvidos no processo. Assim, monitorar o maior número de genes possível torna-se necessário. Neste sentido, as técnicas que conseguem lidar com grande quantidade de genes ao mesmo tempo surgem como ferramentas promissoras para o entendimento global de tais processos.

2.3 Técnicas de Análise de Expressão Gênica

Nesta Seção, algumas técnicas que permitem a análise conjunta de milhares de genes são abordadas. É dada ênfase aos *microarrays*, devido a sua utilização ser mais comum e

Figura 2.3: Processo de expressão gênica. Adaptado de (Casley, 1992).

haver, como consequência, uma maior quantidade de trabalhos relacionados. Além disso, todos os experimentos conduzidos neste trabalho serão efetuados com bases de dados de *microarrays*.

2.3.1 *Microarrays*

Os *microarrays* (Schena, 1999) (Lipshutz et al., 1999) são pequenas pastilhas de alta densidade, fabricadas geralmente de vidro ou de algum tipo de membrana fina, onde milhares de seqüências de DNA são dispostas em pontos fixos. A cada um destes pontos é associada um gene específico que, quando exposto a moléculas de teste de RNA ou DNA fluorescentes, pode ser utilizada para determinar quanto este gene está expresso no tecido em estudo. Com base nisto, é possível detectar, em um único experimento, a atividade de um grande número de genes e analisar suas expressões e relações.

Entre as tecnologias de *microarrays* utilizadas atualmente, 2 tipos estão mais difundidos: os *microarrays* de DNA complementar (Schena, 1999) e os *microarrays* de oligonucleotídeos (Lipshutz et al., 1999). A diferença básica entre eles é que no primeiro, a pastilha é preenchida com seqüências de DNA sintetizadas previamente, compostas de algumas centenas de pares de bases, enquanto que no segundo, conjuntos de oligonucleotídeos sintetizados *in situ* são empregados. A seguir, descrições sucintas das 2 abordagens

são apresentadas ¹.

Microarrays de DNA complementar

A primeira etapa para a fabricação de *microarrays* é a seleção das seqüências de DNA que serão dispostas na pastilha (Duggan et al., 1999) (Quackenbush, 2001). Elas devem ser bem caracterizadas e anotadas, para uma completa adequação aos objetivos do experimento. Para organismos procariontes e alguns eucariontes simples, as seqüências utilizadas são provenientes de DNA genômico ou de DNA complementar (DNAc) e para organismos eucariontes complexos, é comum utilizar fragmentos de ESTs (do inglês *Expressed Sequence Tags*). ESTs são seqüências curtas (poucas centenas de pares de base) que servem como etiqueta para identificar um DNAc (Wolfsberg e Landsman, 2001). DNAc corresponde a uma cópia de DNA genômico feita a partir de RNAm, por meio de um processo conhecido como transcrição reversa (Lodish et al., 1999).

Em seguida, as seqüências selecionadas de DNA são amplificadas por PCR (do inglês *Polymerase Chain Reaction*). PCR é uma técnica pela qual uma grande quantidade de DNA idêntico pode ser sintetizada a partir de uma molécula molde (Lodish et al., 1999). O produto deste processo é, então, parcialmente purificado, tipicamente por precipitação e filtragem por gel, e pode ser fixado na pastilha. A fixação é feita com o auxílio de dispositivos robotizados, que aplicam o produto de PCR de cada gene a um ponto específico na pastilha, que depois sofre tratamentos químico e térmico para fixar as seqüências de DNA (Lodish et al., 1999). O processo de fabricação de um *microarray* é ilustrado na Figura 2.4².

Com as moléculas de DNA dispostas de maneira conhecida e ordenada sobre um *microarray*, diversos tipos de experimentos podem ser realizados. Uma das aplicações mais comuns permite comparar os níveis de expressões relativos de cada gene em 2 amostras distintas, por exemplo, um tecido em seu estado saudável (normal) e doente.

O processo é como segue, de maneira simplificada: inicialmente, as 2 amostras de tecidos são coletadas e têm seu RNAm extraído e isolado. Em seguida, moléculas de DNAc são sintetizadas a partir do RNAm. Para distinguir moléculas de amostras diferentes, tintas fluorescentes são incorporadas aos nucleotídeos das seqüências de DNAc durante a

¹As descrições que seguem são genéricas e têm caráter meramente didático. Para aplicações reais, recomenda-se verificar as referências fornecidas e procurar suporte profissional.

²Na versão eletrônica disponibilizada em www.saber.usp.br, a Figura está colorida.

transcrição reversa. Os pigmentos *Cy3* (verde) e *Cy5* (vermelho) são comumente utilizados na coloração.

Na próxima etapa do experimento, os DNAs das amostras são espalhados homogeneamente por sobre a pastilha, permitindo que eles se acoplem às seqüências de DNA fixas nos diversos pontos do *microarray*. Isto é possível devido ao processo de hibridização, segundo o qual fitas de DNA (ou RNA) podem ligar-se quimicamente a fitas complementares (de acordo com as regras mostradas na Figura 2.2). O grau com que as moléculas de DNA de cada amostra se hibridizam com o DNA de um ponto reflete o nível relativo daquele determinado gene nas 2 condições em estudo.

Após a hibridização, o *microarray* é lavado para a remoção de seqüências não hibridizadas. A seguir, ele é lido por dispositivos eletrônicos (os *scanners*) que iluminam os pontos da pastilha e medem a fluorescência de cada pigmento isoladamente, originando 2 imagens separadas. Por fim, as imagens são combinadas por *software* e a imagem resultante é analisada para determinar a intensidade relativa de fluorescência de cada gene. Este processo é ilustrado na Figura 2.4(a). Nela, é possível ver 3 genes hipotéticos, representados pelos pontos X, Y e Z. No primeiro, o ponto na pastilha é predominantemente vermelho, indicando que é ele mais expresso em uma das amostras. O ponto verde indica que aquele gene é mais expresso na outra amostra. O ponto amarelo indica um gene que tem nível de expressão similar nas 2 amostras.

Para que os dados gerados pelos *microarrays* possam ser analisados na prática, é necessário que os níveis de expressão gênica estejam expressos em forma numérica. Para isso, técnicas de processamento de imagens são empregadas. Segundo Yang et al. (2000), inicialmente, o local de cada ponto na imagem do *microarray* deve ser delimitado. Depois, por meio de técnicas de segmentação, os *pixels* da imagem devem ser classificados como sendo dos pontos ou do fundo da imagem. Finalmente, a intensidade de cada ponto deve ser calculada.

Após o processamento das imagens, certos procedimentos de normalização devem ser aplicados para ajustar as diferenças entre os pigmentos e a capacidade de leitura do *scanner* para cada espectro de cor (Quackenbush, 2001). Algum tipo de normalização também é necessário para corrigir as diferenças de quantidades iniciais do RNA utilizado em cada uma das amostras.

A expressão final e de cada gene é dada pelo logaritmo da razão entre a intensidade

Figura 2.4: *Microarray* de DNA complementar. Imagens adaptadas de (Harrington et al., 2000)

obtida em uma amostra (DNAc tingido com o pigmento *Cy5*) e a intensidade obtida na outra amostra (DNAc tingido com o pigmento *Cy3*), como mostra a Eq. 2.1:

$$e = \log_2(Cy5/Cy3) \quad (2.1)$$

Este tipo de representação oferece algumas vantagens. A primeira é que ela enfatiza o fato de que *microarrays* de DNA complementar não fornecem dados de níveis de expressão absolutos e sim mudanças no nível de expressão relativo em 2 condições, o que pode ser mais interessante biologicamente (Eisen et al., 1998). A segunda é que o uso de logaritmo facilita o entendimento do fenômeno em estudo (Quackenbush, 2001). Por exemplo, se um gene apresenta nível de expressão de 1, segundo a Eq. 2.1, então ele é expresso 2 vezes mais em uma amostra que em outra. Se a expressão for -1, então ele é 2 vezes mais expresso na outra amostra. A principal desvantagem dessa representação é a perda óbvia de informação quanto à intensidade absoluta dos níveis de expressão.

Microarrays oligonucleotídeos

No lugar das seqüências de DNAc utilizadas na abordagem anterior, pequenas seqüências de nucleotídeos (geralmente de 25 pares de bases), denominadas oligonucleotídeos, são

fixadas no *microarray*. Elas são projetadas artificialmente via *software* para representar os genes selecionados para o experimento (Gibson e Muse, 2004) e sintetizadas *in situ* em uma pastilha de vidro. O processo de síntese destas seqüências é baseado em técnicas de manufatura de circuitos integrados (Lodish et al., 1999)(Lipshutz et al., 1999).

Tipicamente, cada ponto do *microarray* contém milhares de conjuntos de 20 diferentes pares de oligonucleotídeos, que são utilizados para representar um gene (Choi, 2004). Os pares são compostos de 2 seqüências conhecidas como *perfect match* (PM) e *mismatch* (MM). Elas são idênticas, exceto por uma única diferença de base na posição central, mais especificamente, no décimo terceiro nucleotídeo, o que faz com que a seqüência PM hibridize com uma seqüência de teste e a MM não. A utilização da seqüência MM visa controlar os efeitos do problema de hibridização cruzada, pelo qual pequenas seqüências de outros genes hibridizam indevidamente com a seqüência PM, diminuindo a especificidade da hibridização (Lipshutz et al., 1999). Alguns autores discordam da utilidade da seqüência MM (Gibson e Muse, 2004)(Hucka e Szallasi, 2003). O processo de fabricação dos *microarrays* de oligonucleotídeos é esquematizado na Figura 2.5(a)³.

Figura 2.5: *Microarray* de DNA complementar. Imagens adaptadas de (Harrington et al., 2000)

Para analisar os níveis de expressão dos genes em 2 amostras, inicialmente faz-se a

³Na versão eletrônica disponibilizada em www.saber.usp.br, a Figura está colorida.

coleta de RNA. Em seguida, o RNA é submetido a um processo de amplificação linear em 2 fases e nucleotídeos marcados com biotina são incorporados às cópias de RNA durante a reação (Harrington et al., 2000)(Choi, 2004). O RNA é então espalhado por sobre a pastilha e as seqüências hibridizam com os oligonucleotídeos ali depositados.

As seqüências de RNA que não hibridizaram são removidas através de processos de lavagem e às restantes é adicionado o composto fluorescente *Streptavidin-Phycoerythrin*, que se liga aos nucleotídeos marcados com biotina (Gibson e Muse, 2004)(Choi, 2004). A *Phycoerythrin* pode ser detectada com o auxílio de um *scanner* apropriado, possibilitando medir quanto RNA hibridizou com os oligonucleotídeos da pastilha. O nível de expressão de cada gene é calculado tendo como base a diferença média entre as seqüências PM e MM referente àquele gene.

Na Figura 2.5(b), que mostra os passos básicos do experimento, tem-se ilustrado conjuntos de oligonucleotídeos PM-MM para 3 genes hipotéticos. O gene X está mais expresso na amostra 2 que na 1. O gene Y está mais expresso na amostra 2 que na 1. O gene Z está expresso em níveis similares nas 2 amostras.

2.3.2 *Serial Analysis of Gene Expression - SAGE*

Uma das principais desvantagens dos *microarrays* é sua limitação em trabalhar apenas com genes que já foram previamente identificados (Ng et al., 2002). Isto se torna um problema uma vez que muitos genes que determinam certos estados celulares, como algumas patologias, não foram ainda descobertos (Venter et al., 2001).

Este problema não ocorre na técnica denominada *Serial Analysis of Gene Expression* (SAGE) (Velculescu et al., 1995). Com ela, todo o RNAm contido em uma célula ou tecido pode ser estudado, independente de os genes da amostra já terem sido identificados ou não. A idéia básica do SAGE é assim resumida: as moléculas de RNAm coletadas podem ser, teoricamente, unicamente caracterizadas por um pequeno conjunto nucleotídico, geralmente dez, com cada nucleotídeo podendo ter como base associada A,T,C ou G. Este conjunto é chamado de *tag*. Em seguida, as *tags* são concatenadas, formando uma série de *tags* de todas as moléculas de RNAm da amostra. Posteriormente, essa série é clonada e seqüenciada. A quantidade de *tags* é contada e assim obtém-se a frequência de cada molécula de RNAm, e consequentemente, o nível de expressão de cada gene.

Dentre as desvantagens do SAGE pode-se destacar que é uma técnica custosa, se

comparada com os experimentos baseados em *microarrays*, por exemplo (Ng et al., 2002). Outro fator negativo do SAGE é que algumas *tags* podem não ser de fato únicas para cada RNAm e também podem ocorrer problemas na nos processos de clonagem e de seqüenciamento, o que compromete a precisão do método (Stollberg et al., 2000).

Um dos primeiros trabalhos com SAGE foi na determinação do perfil de expressão gênica de células normais e com câncer (Zhang et al., 1997). Mais recentemente, ele foi utilizado em vários estudos envolvendo câncer (Waghray et al., 2001) (Argani et al., 2001) (Caldwell et al., 2002) e em pesquisas com plantas (Fujii e Amrein, 2002), entre outros.

2.3.3 *Massive Parallel Signature Sequencing* - MPSS

Outra técnica que permite a análise em larga escala de expressão gênica é a *Massive Parallel Signature Sequencing* (MPSS) (Brenner et al., 2000a). Seu princípio de funcionamento é semelhante ao do SAGE. Todas as moléculas de RNAm são extraídas do tecido, e por meio de clonagem e seqüenciamento, uma assinatura única é obtida para cada molécula de RNAm. O número total de ocorrências de uma assinatura específica determina o nível de expressão de um determinado gene.

A diferença básica entre o SAGE e o MPSS está na forma como ocorre a clonagem e o seqüenciamento. No MPSS, a clonagem é realizada por meio de uma tecnologia que fornece um conjunto de milhões de *microbeads* (pequenas esferas) (Brenner et al., 2000b), cada uma representando uma molécula de RNAm da amostra a ser estudada, e cada *microbead* contendo aproximadamente 100.000 fragmentos de DNAc idênticos àquele RNAm.

O seqüenciamento ocorre com a aplicação do MPSS propriamente dito: os *microbeads* produzidos na clonagem são fixados em uma placa de vidro e depois são expostos a uma série de reagentes químicos. Estes reagentes fazem com que, para cada *microbead*, seja gerada, em paralelo, uma assinatura que identifica o RNAm correspondente àquele *microbead*. Esta assinatura possui, geralmente, um tamanho de 17 a 20 nucleotídeos, e é produzida a partir das milhares de moléculas de DNAc ligadas a cada esfera. Por fim, um software é responsável por contar a quantidade de cada assinatura e, assim, determinar o a expressão gênica total da amostra.

A principal vantagem desta técnica com relação aos *microarrays* é que o MPSS não necessita que os genes tenham sido identificados previamente para conseguir medir seus níveis de expressão. Isto também é conseguido com a utilização do SAGE. Entretanto,

MPSS é mais sensível que o SAGE para analisar genes com níveis muito baixos de expressão (Constans, 2002). Além disso, o MPSS, em comparação com o SAGE, oferece menor possibilidade de ambigüidade, pois utiliza uma assinatura maior para identificar cada molécula de RNAm da amostra estudada. A grande desvantagem do MPSS é seu elevado custo, que o impossibilita de ser comumente utilizado.

Das técnicas citadas nesta Seção, o *microarray* é a mais adequada quando se deseja analisar um número grande, porém mais limitado, de genes em várias amostras, por possibilitar experimentos mais simples, mais rápidos e que envolvem menos custos. Por esta razão, as bases de dados disponíveis são mais numerosas para esta tecnologia que para outras.

Todas essas facilidades fizeram com que os dados de *microarrays* tenham se tornado populares em estudos envolvendo AM, especialmente no paradigma supervisionado. Por isso, o presente trabalho abordará a análise de expressão gênica envolvendo dados obtidos de *microarrays*. É importante ressaltar, no entanto, que esta decisão é devida apenas a motivos práticos e que os estudos realizados neste trabalho podem ser aplicados em dados oriundos das outras tecnologias.

2.4 Considerações finais

Neste Capítulo, foram revistas algumas tecnologias que propiciam a análise maciça de níveis de expressão gênica, com ênfase nos *microarrays*. Com base neste dados, diversos experimentos podem ser realizados. Algumas aplicações da utilização de AM em dados de expressão gênica são destacadas:

- Função de genes: devido à grande quantidade de genes existentes, conseguir descobrir a função de cada um é uma tarefa árdua. Entretanto, sabe-se que genes com expressões semelhantes têm grande probabilidade de apresentarem funções parecidas (Spellman et al., 1998) (Eisen et al., 1998). Sob essa premissa, técnicas de clusterização têm sido aplicadas para determinar a função de genes desconhecidos com base em sua similaridade com aqueles já conhecidos. Alguns trabalhos envolvem agrupamento hierárquico (Perou et al., 2000) e mapas auto-organizáveis (Tamayo et al., 1999).
- Redes genéticas: em sistemas biológicos reais, os genes não atuam de forma isolada. Genes podem regular o comportamento de outros genes. Assim, entender suas

interações e poder inferir relações causais é importante. Friedman et al. (2000) utilizaram redes Bayesianas para tal tarefa.

- Classificação: a classificação de genes isolados ou de amostras de tecido é essencial para um maior entendimento dos genes e para o tratamento adequado a determinadas doenças. Brown et al utilizaram SVMs para classificar genes isolados (Brown et al., 2000). Hwang et al. (2002) fizeram uma análise comparando redes Bayesianas, árvores neurais e redes neurais RBF na classificação de tecidos cancerosos. Dubitzky et al. (2001) realizaram a mesma classificação, mas com a utilização de redes neurais e árvores de decisão. SVMs têm sido utilizadas com sucesso na classificação de câncer em diversos trabalhos (Mukherjee et al., 1999) (Golub et al., 1999b) (Cai et al., 2000).

Neste trabalho, vai-se trabalhar com a classificação de amostras de tecidos utilizando SVMs, que serão apresentadas no Capítulo 3.

Máquinas de Vetores de Suporte

3.1 Considerações Iniciais

Recentemente, uma nova família de algoritmos de aprendizado tem recebido muita atenção da comunidade de AM. São as Máquinas de Vetores de Suporte, ou, simplesmente, SVMs (do inglês *Support Vector Machines*)(Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b).

Elas têm obtido desempenho comparável, ou mesmo superior, a métodos clássicos em diversos domínios. Dentre as aplicações mais comuns¹, pode-se destacar seu uso em: domínios médicos (Takeuchi e Collier, 2004), análise de textos (Joachims, 2002), problemas de visão computacional (Zheng et al., 2004) e bioinformática (Noble, 2004).

Para entender a razão de tal êxito, é necessário examinar os princípios que servem de base a esta abordagem. Inicialmente, deve-se considerar que, do ponto de vista teórico, as SVMs apresentam o respaldo da Teoria do Aprendizado Estatístico (TAE) (Vapnik, 1995). Com isso, há garantias de que o nível de generalização em problemas de classificação seja maximizado.

Sob o aspecto prático, as SVMs apresentam soluções com boa eficiência computacional, permitindo assim seu uso em problemas de larga escala. Isto é possível devido à adoção de diversos conceitos interessantes, como programação quadrática convexa, representação dual e *kernels*.

Neste Capítulo, os fundamentos das SVMs serão sucintamente apresentados. A ênfase será dada a problemas de reconhecimento de padrões binário, devido a sua importância para o presente projeto.

A organização do capítulo é como segue. Na Seção 3.2, é apresentada a Teoria do Aprendizado Estatístico. Na Seção 3.3, os diversos tipos de SVMs são abordados, no decorrer de 3 subseções. Para concluir, na Seção 3.4, algumas considerações finais são tecidas.

¹Uma lista mais extensa das aplicações de SVM pode ser consultada em www.support-vector.net e www.kernel-machines.org.

3.2 Teoria do Aprendizado Estatístico

Uma das grandes questões encontradas em AM diz respeito à capacidade de generalização de um classificador. O problema resume-se em: dado um classificador gerado por um algoritmo de aprendizado, como determinar quão bom é seu desempenho em estimar saídas para entradas não vistas durante a fase de treinamento? Para lidar com esta dificuldade, nos idos da década de 60, Vapnik e Chernovenkis desenvolveram estudos que levaram à criação da Teoria do Aprendizado Estatístico (Vapnik, 1995), que formaliza a relação entre a capacidade de generalização do classificador, a complexidade da classe de funções que o algoritmo de aprendizado pode gerar e a minimização dos erros no treinamento. A seguir, os pontos básicos da TAE serão abordados de maneira mais formal.

Considere um conjunto S formado por N elementos tal que $S = \{(\vec{x}_1, y_1), \dots, (\vec{x}_N, y_N)\}$, onde $\vec{x}_i \in R^M$ e $y_i \in \{+1, -1\}$. Os vetores $\vec{x}_i$ possuem dimensão M e são utilizados para representar objetos do mundo real, como, por exemplo, amostras de tecidos de pacientes. Os y_i são conhecidos como rótulos e correspondem às classes de saída possíveis as quais os $\vec{x}_i$ podem estar associados. Os pares $(\vec{x}_i, y_i)$ são os exemplos rotulados do conjunto de treinamento S^2 .

A tarefa de classificação binária (ou reconhecimento de padrões binário) consiste em descobrir um mapeamento $\vec{x}_i \mapsto y_i$ através das características dos elementos do conjunto S . A função que realiza esse mapeamento é chamada de classificador e é definida como $f : R^M \mapsto \{+1, -1\}$, com $f \in F$, onde F contém todos os possíveis classificadores que um algoritmo de aprendizado pode induzir. A geração de um classificador por um algoritmo de aprendizado aplicado a um conjunto de exemplos rotulados é realizada em uma etapa denominada treinamento.

Uma vez escolhida uma função de mapeamento f , pode-se classificar elementos não vistos durante a fase de treinamento, através do cálculo de $f(\vec{x}_i)$, para um $\vec{x}_i$ qualquer. Este mapeamento só é possível sob a condição de que os elementos desconhecidos ao classificador (coletivamente referidos como conjunto de teste) sejam gerados independentemente pela mesma distribuição de probabilidade P que gerou os elementos do conjunto S .

Dada a cardinalidade de F , escolher um classificador não é trivial, pois pode haver

²considerando-se aqui o paradigma de aprendizado supervisionado

um grande número de mapeamentos entrada-saída disponíveis. Entretanto, para um dado conjunto de treinamento, é sempre desejável que o algoritmo de AM aprenda a melhor função possível, ou seja, aquela que cometa menos erros quando da classificação de um $\vec{x}_i$ do conjunto de teste. Define-se, então, a probabilidade Risco Esperado $R(f)$ para mensurar a capacidade de generalização de f (quanto menor o valor de $R(f)$, melhor o classificador generaliza). Matematicamente, tem-se (Lin, 2000):

$$R(f) = \int \frac{1}{2} |f(\vec{x}) - y| dP(\vec{x}, y) \quad (3.1)$$

Assim, para a construção de um bom classificador, deve-se minimizar a medida $R(f)$. Contudo, ela depende de um termo que geralmente não tem valor conhecido, a probabilidade $P(\vec{x}, y)$. As únicas informações disponíveis são o conjunto de treinamento e a família de funções F . Desta maneira, é necessária outra abordagem para garantir um valor pequeno de $R(f)$ sem que seja preciso a minimização explícita da Equação 3.1.

Uma idéia imediata é simplesmente escolher a função f que minimize o erro durante a fase de treinamento, esperando com isso que a quantidade de erros na classificação de dados novos também seja mínima. A porcentagem de classificações incorretas obtidas para S dá-se o nome de Risco Empírico $R_{emp}(f)$, cuja definição é:

$$R_{emp}(f) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} |f(\vec{x}_i) - y_i| \quad (3.2)$$

onde $|f(\vec{x}_i) - y_i|$ representa o termo de perda quando se prediz a saída desejada y_i a partir da saída computada $f(\vec{x}_i)$.

Mas essa solução, denominada de Minimização do Risco Empírico, nem sempre é ótima, podendo um classificador que trabalha muito bem sobre os dados de S (valor de $R_{emp}(f)$ pequeno) ter desempenho insatisfatório sobre o conjunto de teste (valor de $R(f)$ grande), caracterizando desta forma o *overfitting* (Vapnik, 1995).

Embora não seja possível calcular $R(f)$ e um valor pequeno de $R_{emp}(f)$ não implicar necessariamente em boa generalização, uma relação muito importante entre estas duas medidas é capaz de orientar a escolha de um classificador eficiente. A TAE define a Inequação 3.3, verdadeira com probabilidade de pelo menos $1 - \eta$, para $N > h$ e para o termo de perda de $R_{emp}(f)$ assumindo valores 0 ou 1, como na Equação 3.2 (Vapnik, 1995):

$$R(f) \leq R_{emp}(f) + \sqrt{\frac{h(\log(2l/h) + 1) - \log(\eta/4)}{l}} \quad (3.3)$$

onde h representa a dimensão VC do conjunto F , η é um valor real entre 0 e 1 e N é a quantidade de exemplos do conjunto S . O termo da raiz quadrada é conhecido como termo de confiança.

A dimensão VC (de Vapnik-Chervonenkis) é uma medida da capacidade ou poder de expressão da família de funções F para lidar com a tarefa de classificação. Quanto maior seu valor, mais rico o conjunto F e portanto, regras de classificação mais complexas podem ser aprendidas. Formalmente, a dimensão VC pode ser definida como o número máximo de exemplos de treinamento que podem ser separados pelas funções pertencentes a F , para todas as combinações de classes possíveis (Burgess, 1998). Exemplos ilustrativos da determinação de h para alguns conjuntos F simples podem ser encontradas em (Haykin, 1998).

A Inequação 3.3 fornece um limite superior para um o Risco Esperado. Com isso, é possível limitar o valor de $R(F)$, por meio da escolha adequada, por parte do algoritmo de aprendizado, de uma função $f \in F$ que minimize o Risco Empírico $R_{emp}(f)$ e por meio da determinação de uma classe de funções que mantenha o parâmetro h pequeno. Para esta última tarefa, divide-se o conjunto F em uma hierarquia de subconjuntos da seguinte forma (Vapnik, 1995):

$$F_0 \subset F_1 \subset F_2 \subset \dots \subset F_n \subset F \quad (3.4)$$

em que $VC(F_0) \leq VC(F_1) \leq VC(F_2) \leq \dots \leq VC(F_n) \leq VC(F)$

Para selecionar a classe de funções é preciso observar alguns pontos:

- uma classe muito pequena, como F_0 , pode reduzir o termo da raiz quadrada na Inequação 3.3, enquanto o número de erros durante a fase de treinamento pode permanecer alto, dada a pouca expressividade da classe.
- uma classe muito grande, como F_n , pode reduzir o número de erros durante a fase de treinamento, enquanto o valor de $VC(F_k)$ leva a um grande termo da raiz quadrada na Inequação 3.3.

Por meio destas observações, conclui-se que deve haver uma classe intermediária que limita de maneira ótima o Risco Esperado $R(f)$, aliando um baixo Risco Empírico e uma pequena classe de funções. Ao processo de busca pela classe ótima dá-se o nome de Minimização de Risco Estrutural (MRE). Ele é ilustrado na Figura 3.1.

Figura 3.1: Ilustração da Minimização Estrutural de Risco. O valor ótimo para k (k^*) é determinado por um equilíbrio entre o termo de confiança e a quantidade de erros obtidos no conjunto de treinamento.

A fim de compreender concretamente como os resultados da Teoria do Aprendizado Estatístico possibilitam a construção de bons classificadores, na Seções 3.3 serão estudadas as Máquinas de Vetores de Suporte e sua relação com a minimização do limite apresentado pela inequação 3.3.

3.3 Máquinas de Vetores de Suporte

Conforme dito na Seção 3.1, as SVMs são uma família de algoritmos de aprendizado. Sendo assim, são capazes de extrair conhecimento a partir de amostras de dados. Elas operam de acordo com o paradigma supervisionado, aprendendo uma relação funcional entre os atributos (ou características) de entrada e saída por meio da apreciação de exemplos rotulados. Nesta Seção, será considerado apenas o problema do reconhecimento de padrão binário. Para tanto, a notação apresentada no início da Seção 3.2 será adotada.

3.3.1 SVMs Lineares para Dados de Classes Linearmente Separáveis

As Máquinas de Vetores de Suporte lineares são originalmente classificadores que conseguem discriminar perfeitamente apenas dados de classes linearmente separáveis, por meio da construção de um hiperplano ótimo. Embora tenham uso muito restrito em aplicações reais, os conceitos introduzidos nesta Seção são fundamentais para o desenvolvimento de máquinas mais robustas.

Classificadores lineares são aqueles capazes de separar pontos de classes distintas atra-

vés da utilização de um hiperplano³. Estas classes são ditas, então, linearmente separáveis. A Figura 3.2 ilustra um conjunto de pontos bidimensionais linearmente separáveis e um hiperplano separador. Um hiperplano é definido pela Equação

$$\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b = 0 \quad (3.5)$$

onde $\vec{w}$ é o vetor normal ao hiperplano, e que define sua direção e o termo b é o *bias*, responsável mover o hiperplano em relação à origem. Para determinar a qual classe

Figura 3.2: Conjunto linearmente separável, o hiperplano separador e a regra de decisão.

um ponto qualquer $\vec{x}$, pertence, é suficiente verificar sua posição relativa ao hiperplano definido por $(\vec{w}, b)$. Assim, tem-se a regra, ilustrada na Figura 3.2:

$$\begin{cases} y_i = +1 \text{ se } \langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b > 0 \\ y_i = -1 \text{ se } \langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b < 0 \end{cases} \quad (3.6)$$

É importante enfatizar que para um conjunto de treinamento $S = \{(\vec{x}_1, y_1), \dots, (\vec{x}_N, y_N)\}$, linearmente separável, pode haver diversos hiperplanos separadores. Este fato pode ser visualizado na Figura 3.3. Surge então a questão de qual hiperplano o algoritmo de treinamento da SVM deve escolher. A resposta é fornecida pela TAE.

Segundo a TAE, deve-se sempre escolher o classificador com a melhor capacidade de generalização possível, ou seja, aquele cujo Risco Esperado seja baixo. Como não é possível reduzir esta medida explicitamente, recorre-se ao limite fornecido pela Inequação 3.3, e busca-se minimizar o Risco Empírico e a dimensão VC.

³Segundo Cristianini e Shawe-Taylor (2000b), um hiperplano é um subespaço afim de dimensão $n - 1$ que divide o espaço n -dimensional em duas metades.

Figura 3.3: Vários hiperplanos são capazes de separar dados de classes linearmente separáveis.

Manter o Risco Empírico zerado é trivial, sendo necessário para isso apenas determinar uma configuração de $(\vec{w}, b)$ que classifique os elementos de S perfeitamente, ou seja, que não cometa nenhum erro de classificação no conjunto de treinamento.

Para minimizar a dimensão VC, faz-se uso de um resultado da TAE segundo o qual a dimensão VC da classe dos hiperplanos canônicos é limitada superiormente por um termo inverso à margem de separação entre os elementos do conjunto de treinamento S (Lorena, 2002). Portanto, consegue-se a menor dimensão VC possível maximizando-se a margem de separação.

Diz-se que um hiperplano está na forma canônica quando

$$\min_{\vec{x}_i \in X} |\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b| = 1 \quad (3.7)$$

Esta representação do hiperplano separador é adotada devido à padronização, pois um mesmo hiperplano $(\vec{w}, b)$ pode ser representado por $(k\vec{w}, kb)$, para um escalar positivo $k \neq 0$, e também para facilitar os cálculos posteriores. Os pontos $\vec{x}_i$ que satisfazem a Equação 3.7 são denominados de vetores de suporte (SV, do inglês *support vectors*). Eles são os pontos mais próximos do hiperplano separador. Os SV são representados na Figura 3.4 por pontos mais escuros.

Pela definição de hiperplano canônico, percebe-se que a regra representada em 3.6 pode ser reescrita como (Haykin, 1998):

$$\begin{cases} y_i = +1 \text{ se } \langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b \geq +1 \\ y_i = -1 \text{ se } \langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b \leq -1 \end{cases} \quad (3.8)$$

Pela Figura 3.4 é possível notar também que os SV estão dispostos sobre hiperplanos paralelos ao hiperplano separador de tal forma que os SV positivos estão em $\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b =$

Figura 3.4: Hiperplanos canônicos e os vetores de suporte.

+1 e os negativos em $\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b = -1$. Isto também é consequência da definição de hiperplanos canônicos.

A margem de separação M é definida como a projeção, no vetor $\vec{w}$, da distância entre quaisquer dois SV pertencentes a classes diferentes (Haykin, 1998). A Figura 3.5 ilustra um exemplo de margem M para um conjunto de dados.

Figura 3.5: Margem de separação.

Para calcular a margem M , utiliza-se a noção de distância D entre um ponto $\vec{x}_p$ e um hiperplano $\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b = 0$, definida pela Equação 3.9 (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b):

$$D = \frac{|\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b|}{\|\vec{w}\|} \quad (3.9)$$

onde $\|\cdot\|$ é o símbolo que representa a norma.

Assim, a distância D_1 entre um vetor de suporte qualquer $\vec{x}_1$ e o hiperplano $\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b = 0$, mostrados na Figura 3.5, é

$$D_1 = \frac{M}{2} = \frac{|\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b|}{\|\vec{w}\|} = \frac{1}{\|\vec{w}\|} \quad (3.10)$$

Da Equação 3.10, conclui-se que $M = 2/\|\vec{w}\|$ e que, quanto menor o valor de $\vec{w}$,

maior o valor da margem. Portanto, minimizar $\|\vec{w}\|$ é imperativo para a maximização da margem M e, conseqüentemente, para a diminuição da dimensão VC.

O hiperplano associado à menor margem de separação obtida para o conjunto de treinamento é denominado de ótimo, representado pelo par $(\vec{w}^*, b^*)$, e encontrá-lo é de responsabilidade do algoritmo de aprendizado das SVMs. Formalmente, pode-se re-escrever a tarefa de treinamento como:

$$\begin{cases} \text{Minimizar: } \|\vec{w}\|^2 \\ \text{Sujeito a: } y_i(\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i + b \rangle - 1) \geq 0, \quad i = 1, \dots, N \end{cases} \quad (3.11)$$

onde pode-se ressaltar que a função objetivo que se deseja otimizar é monótona e, portanto, minimizar o $\|\vec{w}\|$ original é equivalente à minimização de $\|\vec{w}\|^2$; e a restrição imposta em 3.11 é, na verdade, a Regra 3.8 escrita de forma simplificada.

Este é um problema clássico de otimização, onde o termo que se deseja minimizar é quadrático e convexo e as restrições são lineares. Ele é conhecido como programação quadrática convexa. Uma técnica padrão para a sua resolução é o método dos multiplicadores de Lagrange. Inicialmente, deve-se definir a função de Lagrange (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b):

$$L(\vec{w}, b, \vec{\alpha}) = \frac{1}{2} \|\vec{w}\|^2 - \sum_{i=1}^N \alpha_i (y_i(\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i + b \rangle - 1)) \quad (3.12)$$

onde os α_i são denominados multiplicadores de Lagrange. A solução para este problema é chamada de ponto de sela ótimo, representada por $(\vec{w}^*, b^*, \vec{\alpha}^*)$, onde $\vec{\alpha}^* = \{\alpha_1^*, \dots, \alpha_N^*\}$. Para encontrar seu valor, faz-se uso do teorema de *Karush-Kuhn-Tucker* (KKT) (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b), que fornece as condições necessárias e suficientes para a otimização da Equação 3.12.

A primeira condição é que as derivadas parciais de L com relação a $\vec{w}^*$ e b^* devem ser zeradas. Assim

$$\begin{aligned} \frac{\partial L}{\partial \vec{w}^*} &= 0, \quad \text{ou } \vec{w}^* = \sum_{i=1}^N \alpha_i y_i \vec{x}_i \\ \frac{\partial L}{\partial b^*} &= 0, \quad \text{ou } \sum_{i=1}^N \alpha_i y_i = 0 \end{aligned} \quad (3.13)$$

As outras condições KKT são:

$$\begin{cases} \alpha_i^* \{y_i(\langle \vec{w}^* \cdot \vec{x}_i + b^* \rangle - 1)\} = 0, & \text{para } i=1, \dots, N \\ \alpha_i^* \geq 0, & \text{para } i=1, \dots, N \\ y_i(\langle \vec{w}^* \cdot \vec{x}_i + b^* \rangle - 1) \geq 0, & \text{para } i=1, \dots, N \end{cases} \quad (3.14)$$

Neste momento, é possível definir o ponto de sela ótimo de L através das condições KKT mencionadas. Entretanto, é conveniente expressar o Problema 3.11 em outra representação, denominada dual. A razão para isto é que nesta, as restrições são mais simples, facilitando o processo de otimização, e também permitindo trabalhar diretamente em espaços de alta dimensionalidade, por meio da utilização de *kernels*, conforme será visto na Subseção 3.3.3.

Para exprimir o problema em sua representação dual, é necessário substituir os resultados obtidos em 3.13 na função de Lagrange definida em 3.12. Com isso, tem-se:

$$\begin{cases} \text{Maximizar: } Q(\vec{\alpha}) = \sum_{i=1}^N \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \alpha_i \alpha_j y_i y_j \langle \vec{x}_i \cdot \vec{x}_j \rangle \\ \text{Sujeito a: } \alpha_i \geq 0, \quad i = 1, \dots, N \\ \sum_{i=1}^N \alpha_i y_i = 0 \end{cases} \quad (3.15)$$

Novamente, aplica-se as condições KKT para encontrar a solução ótima de 3.15, representada por $\vec{\alpha}^*$. Os valores de $\vec{w}^*$ e b^* com relação a $\vec{\alpha}^*$ são assim definidos:

$$\vec{w}^* = \sum_{i=1}^N \alpha_i^* y_i \vec{x}_i = 0, \text{ para } i=1, \dots, N \quad (3.16)$$

$$b^* = \frac{1}{N_{SV}} \left(\sum_{s=1}^{N_{SV}} \left(\frac{1}{y_s} - \langle \vec{x}_s \cdot \vec{w}^* \rangle \right) \right), \text{ para } s=1, \dots, N_{SV} \quad (3.17)$$

onde N_{SV} representa o número de SV do conjunto de treinamento.

É importante salientar que na Equação 3.16 grande parte dos multiplicadores de Lagrange α_i^* tem valor zero. Os pontos x_i com valores α_i^* diferentes de zero correspondem aos vetores de suporte. Eles são, portanto, os pontos mais determinantes do conjunto de treinamento para a classificação. De fato, com os resultados das equações 3.16 e 3.17, pode-se escrever o classificador final f como (com base em 3.6):

$$f(\vec{x}) = \begin{cases} +1 & \text{se } \sum_{i=1}^{N_{SV}} y_i \alpha_i^* \langle \vec{x} \cdot \vec{x}_i \rangle = 0 > 0 \\ -1 & \text{se } \sum_{i=1}^{N_{SV}} y_i \alpha_i^* \langle \vec{x} \cdot \vec{x}_i \rangle = 0 < 0 \end{cases} \quad (3.18)$$

3.3.2 SVMs Lineares para Dados de Classes Não-linearmente Separáveis

Na Subseção 3.3.1, foi estudada a forma como as SVMs lineares lidam com dados de classes linearmente separáveis. A exposição foi valiosa no sentido de introduzir conceitos

importantes, como margens e representação dual do problema, por exemplo. Entretanto, para fins práticos, a abordagem vista ali não é de grande valia. Isto ocorre simplesmente devido à constatação de que, na maioria dos problemas reais, os dados não são bem comportados, com elementos de classes distintas sendo perfeitamente discriminados por um hiperplano.

Na verdade, em muitas aplicações, seja pela própria natureza do domínio ou por ruído nos dados, acontece a sobreposição de classes, com elementos de uma classe confundindo-se com elementos de outra. Nestes casos, não é possível utilizar um hiperplano de separe perfeitamente os pontos. Assim, diz-se que os dados são não-linearmente separáveis. Um conjunto de dados não-linearmente separável é mostrado na Figura 3.6.

A dificuldade em utilizar uma SVM linear para classificar dados não-linearmente separáveis decorre do fato de a restrição $y_i(\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i + b \rangle \geq 1$, dada em 3.11, não poder ser respeitada sempre. Por exemplo, considere o conjunto de treinamento representado na Figura 3.6. Nela, vê-se que o ponto x_1 está circundado por pontos da classe oposta. Neste caso, não existe uma configuração $(\vec{w}, b)$ de hiperplano separador que satisfaça a restrição 3.11, pois esta é muito rígida.

Figura 3.6: Conjunto de dados de classes não-linearmente separáveis.

Uma forma de contornar este problema é a introdução de um conjunto de variáveis de folga $\{\xi_1, \dots, \xi_i\}$, $i = 1, \dots, N$, que flexibilizaria 3.11, permitindo que erros de classificação ocorressem. A nova restrição é assim formulada (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b):

$$y_i(\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i + b \rangle \geq 1 - \xi_i, \text{ para } i = 1, \dots, N \text{ e } \xi_i \geq 0 \quad (3.19)$$

Uma variável de folga ξ_i mede o quão afastado um ponto x_i está do hiperplano contendo os vetores de suporte de sua classe ($\langle \vec{w} \cdot \vec{x} \rangle + b = \pm 1$). Assim, quanto maior seu valor, pior classificado o ponto está. O elemento x_1 da Figura 3.7, por exemplo, está melhor

classificado que o elemento x_2 , e, portanto, tem o valor ξ_1 associado menor. Se todos os pontos do conjunto de treinamento tiverem $\xi_i = 0$, diz-se que a classificação é perfeita.

Figura 3.7: Variáveis de folga ξ_i

Conforme visto na Subseção 3.3.1, o algoritmo de treinamento das SVMs lineares tem por objetivo encontrar o hiperplano associado com a maior margem de separação possível. Para o caso de dados de classes não-linearmente separáveis, é necessário também que o algoritmo minimize os valores de ξ_i . Assim, o problema pode ser formulado da seguinte forma:

$$\begin{cases} \text{Minimizar:} & \|\vec{w}\|^2 + C \sum_{i=1}^N \xi_i \\ \text{Sujeito a:} & y_i(\langle \vec{w}, \vec{x}_i \rangle + b) - 1 \geq 0, \quad i = 1, \dots, N \end{cases} \quad (3.20)$$

onde C é o parâmetro de penalidade definido pelo usuário. Um valor grande de C corresponde a atribuir uma grande penalidade a erros de classificação durante o treinamento.

Como o Problema 3.11, este também é de programação quadrática e pode ser resolvido através dos métodos comentados na Subseção 3.3.1. Apenas algumas alterações precisam ser salientadas, como na representação dual do problema:

$$\begin{cases} \text{Maximizar:} & Q(\vec{\alpha}) = \sum_{i=1}^N \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \alpha_i \alpha_j y_i y_j \langle \vec{x}_i, \vec{x}_j \rangle \\ \text{Sujeito a:} & 0 \leq \alpha_i \leq C, \quad i = 1, \dots, N \\ & \sum_{i=1}^N \alpha_i y_i = 0 \end{cases} \quad (3.21)$$

A última restrição de 3.21 é diferente daquela vista para o caso linearmente separável, pois os valores de α_i são limitados por C (no problema 3.15 pode-se considerar $C = \infty$). O procedimento para encontrar os valores ótimos de $\vec{w}^*$ e de b^* é o mesmo e a forma como o classificador final é representada é igual à representação utilizada na Equação 3.18.

3.3.3 SVMs Não-lineares

Na Subseção 3.3.1, foram estudados diversos aspectos das SVMs lineares apenas para o caso de dados de classes linearmente separáveis. Na Subseção 3.3.2, foi possível construir classificadores lineares capazes de superar esta limitação, de forma a trabalhar com classes superpostas. Nesta Subseção, utiliza-se os recursos do arcabouço teórico estruturado anteriormente para conseguir lidar com elementos de classes que não podem ser discriminados diretamente através de um hiperplano.

Para exemplificar, considere o conjunto de pontos bidimensionais da Figura 3.8. É trivial perceber que não é possível separar os elementos da classe círculo dos elementos da classe quadrado simplesmente com a utilização de um hiperplano.

Figura 3.8: Conjunto de dados não-linear

A idéia implementada pelas máquinas de vetores de suporte não-lineares é transformar os elementos de seu espaço de entrada original (o *input space*) para outro (de alta dimensionalidade, potencialmente infinita), conhecido como espaço de características (o *feature space*) e tentar projetar um classificador neste espaço.

A motivação para esta estratégia foi fornecida por Cover (Haykin, 1998), quando afirmou que se a transformação do espaço de entrada original para o espaço de características fosse não-linear e a dimensão do espaço de características fosse suficientemente grande, então, com alta probabilidade, os dados seriam linearmente separáveis no novo espaço. Desta forma, para realizar a classificação de um conjunto de pontos como o representado na Figura 3.9, é suficiente realizar o mapeamento dos elementos entre os espaços através de uma função não-linear $\Phi(\vec{x}) : R^M \rightarrow R^{M'}$, $M \ll M'$, representada na Figura 3.9, e aplicar o algoritmo de aprendizado da Subseção 3.3.2 para a geração de um classificador.

Figura 3.9: Mapeamento Espaço de entrada - Espaço de saída.

Assim, substituindo $\vec{x}_i$ por $\phi(\vec{x})$ no problema 3.21, tem-se:

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Maximizar: } Q(\vec{\alpha}) = \sum_{i=1}^N \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \alpha_i \alpha_j y_i y_j \langle \phi(\vec{x}_i) \cdot \phi(\vec{x}_j) \rangle \\ \text{Sujeito a: } 0 \leq \alpha_i \leq C, \quad i = 1, \dots, N \\ \sum_{i=1}^N \alpha_i y_i = 0 \end{array} \right. \quad (3.22)$$

É importante notar que pode ser extremamente custoso calcular os $\phi(\vec{x}_i)$ durante a fase de treinamento da SVM. Entretanto, graças à representação dual de 3.22, que expressa os dados do conjunto de treinamento apenas na forma de produto escalar, este esforço é poupado pela utilização de *kernels*.

Os *kernels* são funções definidas segunda as condições de Mercer (Cristianini e Shawe-Taylor, 2000b) que recebem dois pontos $\vec{x}$ e $\vec{z}$ do espaço de entrada e computam o produto escalar $\langle \phi(\vec{x}) \cdot \phi(\vec{z}) \rangle$ no espaço de características, conforme descrito em 3.23:

$$k(\vec{x}, \vec{z}) = \langle \phi(\vec{x}) \cdot \phi(\vec{z}) \rangle \quad (3.23)$$

Assim, não é necessário preocupar-se com a forma explícita de ϕ , o que garante às SVMs grande vantagem computacional. Alguns dos *kernels* mais utilizados são mostrados na Tabela 3.1. É importante ressaltar que a escolha do *kernel* é dependente do domínio da aplicação. Em todos os experimentos realizados neste trabalho, será utilizado o *kernel* linear, que tem sido amplamente utilizado na classificação de amostras de tecido com base em dados de expressão gênica.

Função <i>kernel</i>	$K(\vec{x}, \vec{x}_i), i = 1, \dots, N$
<i>kernel</i> Linear	$K(\vec{x}, \vec{x}_i) = \langle \vec{x} \cdot \vec{x}_i \rangle$
<i>kernel</i> Polinomial	$K(\vec{x}, \vec{x}_i) = (\langle \vec{x} \cdot \vec{x}_i \rangle + 1)^d$
<i>kernel</i> Gaussiano	$K(\vec{x}, \vec{x}_i) = \exp(-\ \vec{x} - \vec{x}_i\ ^2 / 2\sigma^2)$
<i>kernel</i> Sigmoidal	$K(\vec{x}, \vec{x}_i) = \tanh(\beta_0 \langle \vec{x} \cdot \vec{x}_i \rangle + \beta_1)$

Tabela 3.1: Principais *kernels*

3.4 Considerações Finais

Neste Capítulo, foram revistos os fundamentos das Máquinas de Vetores de Suporte, uma classe de algoritmos de aprendizagem que tem obtido grande sucesso em diversas aplicações. Segundo Smola e Schoolkopf (2002), as principais vantagens das SVMs são:

- Boa capacidade de generalização: conforme visto, graças à implementação dos princípios da Teoria do Aprendizado Estatístico apresentada na Seção 3.2, as SVMs conseguem minimizar a probabilidade de erros quando do confronto com dados não vistos durante a fase de treinamento;
- Eficiência computacional: no decorrer da Seção 3.3, foi visto como conceitos como representação dual e *kernels* ajudam a manter os algoritmos das SVMs tratáveis mesmo para problemas mais complexos;
- Robustez em grandes dimensões: as SVMs são tolerantes a problemas comumente encontradas em outros tipos de algoritmo de AM quando expostos a dados de grande dimensão, como o *overfitting* e a degradação acentuada de desempenho.

Além de todos estes pontos positivos, diversos estudos sugerem que as SVMs podem se beneficiar fortemente de técnicas de redução de dimensionalidade de dados (Guyon et al., 2002) (Weston et al., 2000) (Rakotomamonjy, 2003). Assim, no Capítulo 4, será estudado uma das abordagens mais comuns de redução de dimensionalidade, a seleção de características. Serão também apresentados estudos envolvendo técnicas de seleção de características desenvolvidas exclusivamente para as SVMs.

Seleção de Características em Dados de microarray

4.1 Considerações Iniciais

Recentemente, os experimentos de *microarrays* têm auxiliado biólogos e pesquisadores a compreender melhor a dinâmica celular e seus relacionamentos com estados patológicos. Dentre as aplicações mais comuns desta tecnologia, pode ser citada a classificação de novas amostras de tecidos a partir de sua descrição genética, utilizando-se algoritmos de AM. De fato, diversos estudos mostraram a eficácia dessa abordagem na classificação de doenças severas, como o câncer (Inza et al., 2004) (Xing, 2003) (Mukherjee, 2003). Em comum, esses trabalhos destacam que lidar com poucos genes é primordial para uma maior qualidade dos resultados e para a compreensão do fenômeno considerado.

Para reduzir o número de genes com um mínimo de perda de informação, pode-se utilizar técnicas de redução de dimensionalidade. Há, basicamente, 2 abordagens para isso: a extração de características e a seleção de características. A primeira consiste em criar novas características a partir de transformações e combinações das características existentes. Alguns trabalhos mostram a utilidade desta abordagem em dados de *microarray* (Nguyen, 2005) (Dragomir et al., 2004). A segunda consiste em selecionar um subconjunto ótimo de características, segundo algum critério pré-estabelecido. Em experimentos de expressão gênica, esse subconjunto é composto de genes que podem ser analisados posteriormente em laboratório para entender seu relacionamento com o problema em estudo. Sendo assim, técnicas desta abordagem têm sido preferida.

Neste Capítulo, é considerada a utilização de técnicas de seleção de características aplicadas a bases de dados de expressão gênica. Inicialmente, as motivações para isso são fornecidas e o problema é descrito formalmente. Posteriormente, as abordagens de seleção são apresentadas e as técnicas utilizadas neste trabalho são discutidas. Em seguida, são

propostas 2 estratégias baseadas em Algoritmos Genéticos para selecionar subconjuntos de características. Por fim, algumas considerações são tecidas.

4.2 O Problema da Seleção de Características

O objetivo de AM é extrair conhecimento de forma automática de um conjunto de dados Michalski et al. (1983). Para isso, o algoritmo de AM muitas vezes faz uso de exemplos rotulados, representados por vetores de características, e tenta aprender uma função de mapeamento entre os exemplos de entrada e suas saídas desejadas. Este aprendizado ocorre na chamada fase de treinamento do algoritmo, ao final da qual um classificador é induzido.

Teoricamente, quanto mais características forem utilizadas para representar os exemplos, mais informação estará disponível para o algoritmo de AM e portanto melhor será o desempenho do classificador Koller e Sahami (1996). Entretanto, restrições práticas sugerem que trabalhar com um conjunto reduzido de características pode ser benéfico em diversos aspectos.

Primeiro, em aplicações reais, geralmente observa-se que quanto maior o número de características, maior a quantidade de exemplos necessária para construir um classificador de bom desempenho. Esse fenômeno é conhecido como maldição da dimensionalidade Jain et al. (2000). Em alguns casos, o número requerido de exemplos pode ser exponencial em relação ao número de características Bishop (1996). Em muitas situações, um conjunto menor de características pode melhorar o desempenho do classificador, devido aos efeitos da quantidade finita de exemplos de treinamento Jain e Chandrasekaran (1982).

Segundo, em alguns domínios, é comum que a maioria das características não seja informativa para a distinção entre as diferentes classes Xing (2003). Isto ocorre principalmente por serem irrelevantes ou redundantes ou apresentarem níveis elevados de ruído. Assim, o aprendizado pode ser realizado mais efetivamente desconsiderando-se tais características. Além disso, o uso de mais características implica em maior custo de aquisição e análise dos dados, além de aumentar o tempo de processamento dos algoritmos de AM.

Terceiro, em certos casos, a visualização e compreensão dos dados é tão importante quanto o bom desempenho do classificador. Um exemplo disso são os problemas de diagnóstico médico utilizando dados de expressão gênica. A identificação de genes relacionados

com o fenótipo em estudo é de grande interesse prático. Biólogos e pesquisadores podem examinar os genes selecionados para corroborar descobertas recentes e sugerir novas oportunidades de exploração.

Para realizar a redução de dimensionalidade, os métodos de Seleção de Característica (SC) estão entre os mais utilizados. O princípio básico dos métodos de SC consiste em, dado um conjunto de n características, selecionar um subconjunto de tamanho k tal que o erro de classificação tenha a maior redução possível em relação ao conjunto completo Jain et al. (2000). Formalmente, a SC pode ser definida pelo seguinte procedimento: dado um conjunto de exemplos S_n ($S_n \subset R^n$), onde cada exemplo s_n ($s_n \in S_n$) é um vetor de n características e sejam C_k o conjunto de todas as combinações de k características ($k < n$) do conjunto original de n características e $S_{n,k}$ a projeção do conjunto S_n na combinação de características c_k , selecionar um subconjunto de $c_k \in C_k$ tal que a função $J(S_{n,k})$ seja maximizada, onde $J(\cdot)$ é uma função critério que assume maiores valores para melhores subconjuntos de características. Conforme será visto posteriormente, diversos critérios podem ser adotados, dependendo da estratégia de SC considerada.

Este trabalho dará ênfase a métodos de SC no contexto de dados de expressão gênica provenientes de experimentos de *microarrays*. Este tipo de dados possui algumas propriedades que tornam a aplicação de SC possível e muito desejável. A saber:

1. Alta dimensionalidade: os experimentos de *microarray* são projetados para medir a expressão de grande quantidade de genes simultaneamente. Tipicamente, milhares de medições são consideradas. Na classificação de tecidos, os genes correspondem às características que representam cada amostra.
2. Características irrelevantes: os estudos sugerem que apenas uma pequena parcela de genes está envolvida em um fenômeno biológico específico Jaeger et al. (2003). Sendo assim, para realizar a distinção entre amostras de diferentes estados patológicos utilizando expressão gênica, é suficiente focar apenas nos genes mais informativos.
3. Características redundantes: em alguns casos, é possível que haja uma alta correlação entre os genes. Isto geralmente ocorre quando os genes estão na mesma via metabólica, são co-expressos ou são do mesmo cromossomo Jaeger et al. (2003). Na maioria dos casos, a eliminação de características muito correlacionadas com outras não influencia o desempenho do classificador.
4. Dados com ruído: os experimentos de *microarrays* estão sujeitos a diversas fontes de

ruído. As mais comuns se devem às técnicas de processamento de imagem Gibson e Muse (2004), que podem distorcer a imagem do *microarray*, às variações biológicas e aos protocolos experimentais empregados Tu et al. (2002).

5. Poucos dados: atualmente, as bases de dados de *microarray* disponíveis publicamente são compostas de poucas amostras de tecido, geralmente na ordem de dezenas. A principal razão pra isso é o alto custo da tecnologia e a dificuldade de obtenção de amostras clínicas suficientes, o que impede a realização de mais experimentos Kim e Park (2004).

A seguir, as características gerais dos algoritmos de SC empregados na literatura serão apresentadas. A partir deste ponto e até o fim do Capítulo, os termos gene e característica serão utilizados indistintamente. Então o problema de selecionar subconjuntos de genes deve ser entendido como um problema de SC.

4.3 Características dos Algoritmos de SC

Pode-se considerar a seleção de características como um problema de busca. Neste, todas as combinações possíveis das características correspondem ao espaço de busca. A Figura 4.1 ilustra um grafo representando um domínio com quatro características. Cada nó do grafo significa um possível subconjunto de características. O círculo escuro indica que a característica está presente e círculo branco indica que ela está ausente.

Figura 4.1: Seleção de características como um problema de busca Blum e Langley (1997)

Neste contexto de busca, Blum e Langley (1997) definiram quatro aspectos que devem

ser considerados ao tratar o problema da seleção de características. São eles: ponto(s) do início da busca e geração dos subconjuntos, organização da busca, estratégia de avaliação e o critério de parada.

4.3.1 Ponto(s) de Início da Busca e Geração dos Subconjuntos

Motoda e Lin (2002) destacam as seguintes formas de geração de subconjuntos:

1. **Geração para trás (*backward generation*)**. A busca tem início pelo conjunto contendo todas as características (nó mais a direita do grafo da Figura 4.1) e em seguida vai-se removendo as características para formar novos subconjuntos. Se uma característica por vez for removida, tem-se a chamada seleção seqüencial para trás.
2. **Geração adiante (*forward generation*)**. O conjunto inicial de características é vazio (nó mais a esquerda do grafo da Figura 4.1) e, a cada nível do grafo, novas características são acrescentadas. Se uma característica for acrescentada por vez, tem-se a chamada seleção seqüencial adiante.
3. **Geração bidirecional (*bidirectional generation*)**. A busca tem início tanto pelo conjunto de características vazio quanto pelo conjunto contendo todas as características e os subconjuntos vão sendo gerados através da remoção e da adição de características, de acordo com as extremidades do grafo.
4. **Geração randômica (*random generation*)**. Esta abordagem é caracterizada pelas escolhas aleatórias do ponto inicial e da decisão de remover ou adicionar as características.

4.3.2 Estratégia da Busca

Tendo definido o ponto inicial da busca e a forma da geração dos subconjuntos, é necessário definir que algoritmo utilizar para percorrer o grafo. Há várias abordagens. Lin e Motoda (1998b) resumiram os algoritmos nas seguintes categorias:

1. **Busca completa**. Por busca completa entende-se aquela que consegue avaliar todos os subconjuntos ótimos (de acordo com algum critério de avaliação), caso haja mais de um. A princípio, a única maneira que garantir isso é realizando uma busca exaustiva, onde todos os nós são visitados. Entretanto, caso o critério de avaliação satisfaça certas propriedades, como ser uma função monotônica¹, pode-se encontrar

¹Uma função $f(x)$ é dita monotônica se $f(x_1) \geq f(x_2)$ sempre que $x_1 \geq x_2$.

um conjunto ótimo sem ser necessário visitar todos os nós do grafo.

2. **Busca heurística.** A utilização de heurísticas² pode diminuir dramaticamente a complexidade da busca, e ainda assim apresentar resultados satisfatórios. Entretanto, diferente da categoria anterior, os algoritmos desta não podem garantir que a solução fornecida seja ótima, embora geralmente bons subconjuntos de características sejam encontrados.
3. **Busca não-determinística.** Este tipo de busca está intimamente relacionado com a geração randômica vista na Seção 4.3.1. Esta abordagem apresenta duas características principais: não é necessário esperar até que a busca termine para se encontrar uma solução adequada e não é possível saber quando o subconjunto de características ótimo vai aparecer (apenas sabe-se que um subconjunto é melhor que outro se ambos já tiverem sido visitados).

4.3.3 Estratégia de Avaliação

Um dos aspectos centrais de todo algoritmo de SC é definir qual sua estratégia para avaliar um dado subconjunto de características. Em Liu e Motoda (1998b), 2 categorias de critérios de avaliação são destacadas, baseado em como o critério se relaciona com o algoritmo de aprendizado:

1. **Independente.** Os critérios independentes tentam avaliar quão boa é uma característica ou um conjunto de características sem o envolvimento do algoritmo de aprendizado no processo. Eles estão relacionados com o filtros, que serão vistos na Seção 4.4.
2. **Dependente.** Os critérios dependentes tentam avaliar quão boa é uma característica ou um conjunto de características analisando o desempenho de um algoritmo de aprendizado aplicado às características escolhidas. Ou seja, o próprio desempenho do algoritmo de aprendizado é utilizado como critério para avaliar o conjunto de características. Estes critérios estão relacionados com a abordagem de *wrappers*, que será vista na Seção 4.5.

²Heurísticas corresponde a um conjunto de regras e métodos que conduzem à resolução de um problema.

4.3.4 Critério de Parada

Quando se utiliza a busca exaustiva, o algoritmo de seleção de características pára quando todos os nós tiverem sido visitados. Quando outros tipos de busca forem utilizados, é necessário definir algum critério para que o algoritmo pare sua execução. Alguns critérios sugeridos são (Liu e Motoda, 1998a):

1. Parar quando um número pré-definido de características é alcançado;
2. parar quando nem a adição de novas características nem a remoção das características atuais melhoram a avaliação do subconjunto;
3. parar quando o desempenho começar a se deteriorar ou;
4. parar quando se alcança a extremidade oposta do grafo e, então, escolher o melhor subconjunto, seguindo algum critério pré-estabelecido.

4.4 Filtros

Os filtros são métodos que selecionam subconjuntos de características de forma independente do algoritmo de AM utilizado (John et al., 1994). Eles agem em uma etapa de pré-processamento dos dados, aplicando algum tipo de heurística baseada nas propriedades gerais do conjunto de dados para descartar ou filtrar as características redundantes e/ou irrelevantes. Uma característica é considerada redundante se uma ou mais características são fortemente correlacionadas com ela (Hall, 1999).

Existem várias definições de relevância para uma característica. A mais utilizada se deve a John et al. (1994). Eles definiram formalmente 2 graus de relevância. Uma característica x_i é considerada fortemente relevante se a distribuição de probabilidade dos valores das classes, dado o conjunto completo de características S , modificar-se quando x_i for removida. A característica x_i é considerada fracamente relevante se ela não for fortemente relevante e se a distribuição de probabilidade dos valores das classes, dado um subconjunto de características s ($s \subset S$), do qual x_i é membro, modificar-se quando x_i for removida. Todas as características que não são nem forte nem fracamente relevantes, são consideradas irrelevantes.

Esquemáticamente, a abordagem de filtros pode ser representada pela Figura 4.2. Nela, alguma estratégia é adotada para realizar a busca no espaço de possíveis subconjuntos de características, utilizando os exemplos do conjunto de treinamento. Cada subconjunto

considerado é avaliado de acordo com uma heurística pré-estabelecida. O valor da heurística serve para definir quão bom é o subconjunto e também para guiar a busca. Ao final do processo de SC, o subconjunto selecionado é utilizado para reduzir a dimensionalidade dos conjuntos de dados (treinamento e teste). Por fim, o conjunto de treinamento é utilizado pelo algoritmo de AM para construir um classificador, que será utilizado para classificar os exemplos do conjunto de testes.

Figura 4.2: Seleção de características baseada em filtros.

Algumas vantagens desta abordagem podem ser destacadas:

1. como o processo de seleção não depende de nenhum classificador, as características selecionadas podem ser utilizadas por diferentes algoritmos de AM;
2. as heurísticas utilizadas para avaliar um subconjunto são computacionalmente pouco custosas, assim os filtros podem ser bastante rápidos e;
3. os filtros conseguem lidar eficientemente com uma grande quantidade de dados.

A principal desvantagem dos filtros refere-se a sua independência ao algoritmo de AM. Como a SC e o AM são processos separados, o *bias*³ de um não interage com o *bias* de outro, o que pode levar à construção de classificadores com desempenho aquém do desejado.

Quanto às heurísticas utilizadas, os filtros podem ser categorizados de 2 maneiras:

³O *bias* refere-se à tendência dos algoritmos em sistematicamente favorecer determinadas situações, dentre as muitas disponíveis. Em AM, um exemplo pode ser a preferência de certos algoritmos em construir classificadores mais ou menos complexos. Em SC, um algoritmo pode preferir características que possuam certas propriedades.

aqueles que avaliam cada característica isoladamente e aqueles que avaliam subconjuntos de características. Os primeiro realizam um ranking das características, segundo algum critério. Por si só, estes métodos não reduzem a dimensionalidade dos dados. Eles são utilizados em conjunto com algum critério que selecione as características de acordo com o ranking das características. Tipicamente, escolhe-se aquelas que estão em melhor posição no ranking. A outra maneira considera as características em interação com outras. Isto contribui para encontrar subconjuntos bons como um todo, mas que não tenham necessariamente as melhores características individualmente.

As heurísticas que realizam um ranking das características são as mais empregadas na análise de dados de expressão gênica. Elas podem ser utilizadas para encontrar genes que melhor discriminam entre estados patológicos. Isso permitiria que os cientistas entendessem melhor a patologia e desenvolvessem novos medicamentos que atuassem diretamente nas proteínas codificadas por tais genes (Guyon e Elisseeff, 2003). Dado seu potencial, os métodos desta abordagem são mais numerosos. A seguir, os filtros utilizados neste trabalho são apresentados.

4.4.1 Golub

Este método foi introduzido por Golub et al. (1999b). Para realizar o ranking dos genes, ele baseia-se em 2 pontos: a expressão típica de um gene informativo deve ser muito diferente nas classes consideradas (por exemplo, câncer e saudável) e deve existir pouca variação na expressão do gene em uma mesma classe. Para atender a ambos os requisitos, os autores desenvolveram a métrica P . A idéia é que a separação entre as expressões de um gene em 2 classes é proporcional à distância entre suas médias. Entretanto, esta distância deve ser normalizada pelos desvios padrões das expressões de cada classe. Assim, a fórmula da métrica é a seguinte, dado um vetor c de classes e um vetor g de expressões de um gene em n amostras:

$$P(g, c) = \frac{\mu_+ - \mu_-}{\sigma_+ + \sigma_-} \quad (4.1)$$

onde μ_+ e σ_+ são a expressão média e o desvio padrão de um gene nas amostras da classe positiva e μ_- e σ_- são a expressão média e o desvio padrão de um gene nas amostras da classe negativa.

A métrica P assume grandes valores positivos quando o gene é muito correlacionado com a classe positiva e grandes valores negativos quando ele é muito correlacionado com

a classe negativa. Para selecionar n genes a partir do ranking realizado com essa métrica, procede-se selecionando os $n/2$ primeiros genes e os $n/2$ últimos genes.

4.4.2 Threshold Number of Misclassification - TNoM

Este método foi introduzido por Ben-Dor et al. (2000a). O TNoM baseia-se na idéia de que genes informativos têm valores de expressão muito diferentes nas classes consideradas e, portanto, é possível encontrar para cada um deles um *threshold* que separe as amostras de classes distintas. Este *threshold* corresponde a uma regra de classificação $sign(a \cdot x + b)$ que minimize o número de erros de classificação. O erro $Err(a, b|g)$ de um gene g é definido por (Ben-Dor et al., 2000b):

$$Err(a, b|g) = \sum_{i=1}^n 1\{l_i \neq sign(a \cdot x_i[g] + b)\} \quad (4.2)$$

onde n é a quantidade de exemplos do conjunto de treinamento, l_i é a classe do i -ésimo exemplo e $x_i[g]$ é o valor da expressão do gene g no i -ésimo exemplo.

O valor de TNoM de um gene g é o número de erros obtido pela melhor regra de classificação encontrada para aquele gene. A melhor regra é encontrada otimizando-se os parâmetros a e b na Equação 4.2. Assim, genes com menores valores no ranking possuem maior capacidade de discriminação entre as classes e devem ser selecionados. O cálculo do TNoM é dado pela seguinte equação:

$$TNoM(g) = \min_{a,b} Err(a, b|g) \quad (4.3)$$

4.4.3 Info

Este método foi descrito por Ben-Dor et al. (2000a) e Ben-Dor et al. (2002). Ele utiliza a noção de entropia proveniente da Teoria da Informação (Cover e Thomas, 1991) para determinar quão informativo é um gene para a discriminação de amostras de 2 classes. A seguir, é detalhado como a entropia pode ser utilizada para indicar se um gene é diferentemente expresso em amostras de classes distintas.

Considere um gene g e um vetor v , de tamanho n , formado de elementos $\{-, +\}$, onde n representa o número de exemplos do conjunto de treinamento. Os elementos deste vetor são dispostos de acordo com as classes dos exemplos ordenados em ordem crescente pelo

nível de expressão de g . Para exemplificar, suponha um conjunto com 10 exemplos. Os níveis de expressão do gene g nos exemplos positivos e negativos são, respectivamente, $\{10, 20, 30, 50, 60, 70\}$ e $\{40, 80, 90, 100\}$. Então,

$$v = \{+, +, +, -, +, +, +, -, -, -\}. \quad (4.4)$$

O vetor v é utilizado pra determinar se um gene é expresso diferentemente em amostras de 2 classes. Se o gene é muito ou pouco expresso em amostras de uma classe em comparação com amostras da outra classe, uma nítida separação entre elementos positivos e negativos é observada em v . Desta forma, é possível particionar v de tal forma que a maioria dos elementos positivos esteja em um vetor x e a maioria dos elementos esteja em um vetor y (ou vice-versa). No exemplo da Equação 4.4, x e y poderiam ser:

$$\begin{aligned} x &= \{+, +, +, -, +, +, +\} \\ y &= \{-, -, -\} \end{aligned} \quad (4.5)$$

A partição de v é melhor quanto mais homogêneos forem x e y . Uma medida de homogeneidade pode ser a entropia ⁴, definida da seguinte maneira: dada uma variável aleatória Z :

$$H(Z) = -p \log(p) - (1-p) \log(1-p) \quad (4.6)$$

A entropia é utilizada para medir a incerteza associada a uma variável aleatória. Considerando-se o vetor v uma variável aleatória, se $H(v) = 0$, então todos os elementos de v são iguais e, portanto, v é homogêneo. Quando os números de elementos positivos e negativos são iguais, a entropia de v assume seu valor máximo, $-\log(p)$.

A heurística INFO associada ao vetor v é definida como a mínima soma ponderada das entropias dos vetores x e y , dentre todas as possibilidades de partição de v em vetores x e y . A fórmula é a seguinte:

$$\text{Info}(v) = \min_{x,y=v} \left(\frac{|x|}{|v|} H(x) + \frac{|y|}{|v|} H(y) \right) \quad (4.7)$$

onde $|\cdot|$ é o tamanho do vetor.

⁴Para utilizar a entropia, deve-se trabalhar com variáveis discretas. Como no domínio de expressão gênica as características (genes) possuem valores contínuos, é necessário a aplicação de técnicas de discretização. Liu et al. (2002) descrevem diversos desses métodos.

$\text{INFO}(v) = 0$ se, e somente se, a partição de v resultar em 2 grupos homogêneos, ou seja, que x contenha apenas elementos positivos e y apenas elementos negativos (ou vice-versa). Assim, quando se utiliza essa heurística para realizar a avaliação os genes, seleciona-se aqueles que estiverem em menores posições do ranking.

4.4.4 Taxa de Ganho

Este método é uma versão aprimorada do Ganho de Informação (GI), que é largamente utilizado na seleção de características Hall (1999). O GI utiliza a medida de entropia de uma variável (classe) antes e depois de observar outra variável (característica) para determinar o quanto o conhecimento de uma pode diminuir a incerteza com relação a outra. Formalmente, as Equações 4.8 e 4.9 são utilizadas para calcular a entropia do vetor de classes C antes e depois de observar a característica A .

$$H(C) = - \sum_{c \in C} p(c) \log(p(c)) \quad (4.8)$$

$$H(C|A) = - \sum_{a \in A} p(a) \sum_{c \in C} p(c|a) \log(p(c|a)) \quad (4.9)$$

onde $p(c)$ é a proporção de exemplos do conjunto de treinamento que pertencem à classe c e $p(c|a)$ é a proporção de exemplos cuja característica A assume o valor a que são da classe c .

A quantidade pela qual a entropia de C decresce reflete a informação adicional de C fornecida pela característica A e é chamada de ganho de informação, expresso por:

$$GI(C, A) = H(C) - H(C|A) \quad (4.10)$$

As características que obtêm maiores valores de $GI(C, A)$ fornecem mais informação sobre as classes e, portanto, devem ser selecionadas. Entretanto, o $GI(C, A)$ tende a favorecer características que podem assumir maior número de valores. Para evitar este problema, o $GI(C, A)$ deve ser normalizado pela entropia da característica, resultando na Taxa de Ganho (TG):

$$TG(C, A) = \frac{GI(C, A)}{H(A)} \quad (4.11)$$

Os valores de $TG(C, A)$ estão no intervalo de 0 a 1. Se a característica A e o vetor de classes C forem totalmente independentes, então $TG(C, A) = 0$. Caso A e C sejam

completamente correlacionados, então $TG(C, A) = 1$. Assim, características com maiores valores de TG são preferíveis.

4.4.5 Wilcoxon

Este método foi introduzido por Wilcoxon (1945). Para determinar se um gene é diferentemente expresso em 2 classes distintas, ele testa se os níveis de expressão desse gene seguem a mesma distribuição de probabilidade em todas as amostras ou se, em cada classe, eles possuem uma distribuição diferente. Caso as distribuições sejam diferentes, o gene é considerado informativo para a distinção entre as classes. A seguir, o cálculo do método para um gene é detalhado.

Inicialmente, ordena-se de forma crescente os níveis de expressão do gene em todas as amostras. Em seguida, calcula-se a ordem de cada valor, tal que o menor valor receba ordem 1, o segundo receba ordem 2 e sucessivamente. Caso haja 2 valores idênticos, ambos recebem a média da ordem dos valores. Posteriormente, soma-se as ordens associadas às amostras da menor classe e obtém-se a heurística Wilcoxon W . Por fim, calcula-se o p -value associado a W .

Para ilustrar o processo, considere um conjunto com 10 elementos, cada um representando o nível de expressão do gene g . Os níveis de g nas amostras das classe positiva e negativa são, respectivamente, $\{134, 146, 104, 118, 124, 161\}$ e $\{70, 118, 101, 85\}$. Ordenando-se todos os valores, tem-se o conjunto $\{70, 85, 101, 104, 118, 118, 124, 134, 146, 161\}$. As ordens deste conjunto são: $\{1, 2, 3, 4, 5.5, 5.5, 6, 7, 8, 9\}$. Somando-se as ordens das amostras da menor classe (a negativa), tem-se o valor da heurística $W = 1 + 2 + 3 + 5.5 = 11.5$.

Para calcular o p -valor associado a W , a hipótese nula é que os níveis de expressão de g seguem a mesma distribuição de probabilidade para todas as amostras, independente de suas classes. Caso isso seja verdade, a heurística W deve estar próxima do valor esperado:

$$\frac{n_-(n_- + n_+ + 1)}{2} = 22 \quad (4.12)$$

onde n_- é a quantidade de amostras na classe negativa e n_+ é a quantidade de amostras na classe positiva.

Se o valor calculado de W for muito diferente do valor esperado, então o p -value será pequeno, sugerindo que a hipótese nula possa estar errada. Neste caso, os níveis de expressão do gene g poderiam seguir distribuições diferentes, de acordo com a classe

das amostras. Assim, os genes com os menores p -valores possuem maior probabilidade de serem informativos para a classificação das amostras e podem ser considerados como candidatos para a seleção.

4.4.6 ReliefF

Este método foi introduzido por Kononenko (1994) e é uma extensão do algoritmo Relief original (Kira e Rendell, 1992). Além de ser mais robusto a dados com ruído, ele pode lidar com problemas multiclasse. O princípio de ambos é estimar a qualidade das características com base em como seus valores conseguem distinguir entre amostras que estão próximas umas das outras. A seguir, a forma com o ReliefF realiza essa estimação é detalhada.

Inicialmente, o método seleciona aleatoriamente uma amostra R_i do conjunto de treinamento e busca seus k vizinhos mais próximos da mesma classe e seus k vizinhos mais próximos de classes distintas. Os primeiros são chamados de acertos H_j e os últimos são chamados de faltas $M_j(C)$, onde C é uma classe. Em seguida, ele atualiza as estimativas de qualidade, $W[A]$, para o conjunto A com a características, considerando os valores de R_i , H_j e $M_j(C)$. A idéia básica é que se as amostras R_i e H_j tiverem valores muito diferentes para uma característica A_i , então esta característica contribui para separar amostras da mesma classe, o que não é desejável. Assim, $W[A_i]$ deve ser decrementada. Por outro lado, se R_i e $M_j(C)$ tiverem valores diferentes para a característica A_i , então A_i contribui para separar amostras de classes diferentes e, portanto, a estimativa de qualidade $W(A_i)$ deve ser incrementada. Esse processo é repetido m vezes, onde m é um valor pré-estabelecido. O pseudo-código do ReliefF é dado na Figura 4.3:

Na Figura 4.3, a função $classe(R_i)$ retorna a classe da amostra R_i . A função $dif(A_i, I_1, I_2)$ calcula a diferença entre os valores das características I_1 e I_2 . Ela é definida como:

$$dif(A_i, I_1, I_2) = \frac{|valor(A_i, I_1) - valor(A_i, I_2)|}{max(A_i) - min(A_i)} \quad (4.13)$$

onde $valor(A_i, I_1)$ é o valor que a característica A_i assume na amostra I_1 , $max(A_i)$ e $min(A_i)$ são os maior e menor valores que A assume nas amostras do conjunto de treinamento, respectivamente.

Após a execução do ReliefF, tem-se a medida de qualidade calculada para todas as características. Aquelas que possuem os maiores W são mais informativas para distinguir amostras de classes distintas e, portanto, devem ser selecionadas.

Atribuir todas as estimativas $W[A] = 0.0$

Para Todos $i = 1$ até m **Faça**

Selecionar aleatoriamente uma amostra R_i

Encontrar os k vizinhos mais próximos H_i

Para Todos Cada classe $C \neq \text{classe}(R_i)$ **Faça**

Encontrar os k vizinhos mais próximos $M_i(C)$ da classe C

Fim Para Todos

Para Todos $A = 1$ até n **Faça**

$$W[A] = W[A] + \sum_{i=1}^m \frac{\text{diff}(A, R_i, H_i)}{m \cdot k} \cdot \left(\frac{P_i(C)}{1 - P_i(\text{classe}(R_i))} - \sum_{j=1}^K \frac{\text{diff}(A, R_i, M_j(C))}{m \cdot k} \right)$$

Fim Para Todos

Fim Para Todos

Figura 4.3: Pseudo-código do ReliefF.

4.4.7 Correlation-Based Feature Selection-CFS

Este método foi introduzido por Hall (1999). Ele avalia subconjuntos de características como um todo, diferentemente das abordagens anteriores, que consideram individualmente cada característica. A idéia básica do CFS é que bons subconjuntos possuem características altamente correlacionadas com as classes e não-correlacionadas entre si. Assim, tanto características irrelevantes quanto redundantes podem ser desprezadas. Matematicamente, cada subconjunto S é avaliado de acordo com a heurística $\text{Merito}(S)$:

$$\text{Merito}(S) = \frac{k \overline{r_{cf}}}{\sqrt{k + k(K + 1) \overline{r_{ff}}}} \quad (4.14)$$

onde k é o número de características, $\overline{r_{cf}}$ é a correlação média entre as características e as classes e $\overline{r_{ff}}$ é a correlação média das características entre si. O numerador da Equação 4.14 indica o quanto o conjunto de características é correlacionado com as classes. O denominador indica quanta redundância há no conjunto. Assim, subconjuntos com maiores valores de mérito são preferíveis.

Para calcular $\overline{r_{cf}}$ e $\overline{r_{ff}}$, o CFS utiliza a incerteza simétrica (IS), definida por:

$$IS(X_1, X_2) = 2.0 \frac{IG(X_1, X_2)}{H(X_1) + H(X_2)} \quad (4.15)$$

Exemplos	Caract. 1	Caract. 2	Caract. 3	Caract. 4	Classe
$\vdots$					$\vdots$
E_i	0	1	2	4	C_1
$\vdots$					$\vdots$
E_j	0	1	3	4	C_2
$\vdots$					$\vdots$

Tabela 4.1: 2 exemplos de uma base de dados representados por 4 características.

onde $IG(X_1, X_2)$ é o ganho de informação entre duas variáveis, como definido na Subseção 4.4.4, e $H(X)$ é a entropia de X . A IS assume valores de 0 a 1, indicando o nível de associação entre as variáveis. Maiores valores indicam maiores níveis de associação.

O CFS avalia um subconjunto de características. Para utilizá-lo em SC, é necessário embutí-lo em um mecanismo de busca que explore o espaço de subconjuntos possíveis. Como uma busca exaustiva não é factível em domínios com muitas características, como o de dados de expressão gênica, deve-se empregar uma heurística para seleccionar o subconjunto, observando-se os pontos da Seção 4.3. Neste trabalho, utiliza-se a geração adiante, ou seja, a partir do conjunto vazio, vai-se acrescentando uma característica de cada vez. Isso é feito de acordo com a seleção sequencial adiante. O processo termina quando a adição de uma característica resultar em diminuição do valor de CFS.

4.4.8 Filtro de Consistência

Este método é baseado no trabalho de Liu e Setiono (1996) e está exposto em (Hall e Holmes, 2003). A ideia básica é reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados de tal forma que ele permaneça consistente, ou seja, que exemplos de classes distintas sejam representados por diferentes combinações de valores das características do subconjunto considerado. Para exemplificar o conceito de consistência, considere a Tabela 4.1, que mostra 2 exemplos de um conjunto de dados representados por 4 características.

Os exemplos E_i e E_j são de classes diferentes e as características utilizadas para representá-los são suficientes para fazer essa distinção. Diz-se, então, que os exemplos são consistentes. Se os exemplos forem representados apenas pelas características 1, 2 e 4, então exemplos de classes distintas terão todas as características com o mesmo valor, fazendo com que o conjunto de dados fique inconsistente. Assim, este subconjunto de 3

características não é desejado.

Para avaliar a consistência de um subconjunto S , utiliza-se a seguinte métrica:

$$Consistencia(S) = 1 - \frac{\sum_{i=0}^J |D_i| - |M_i|}{N} \quad (4.16)$$

onde J é o número de combinações dos valores de características de S , $|D_i|$ é o número de ocorrências da i -ésima combinação, $|M_i|$ é a quantidade de exemplos da maior classe e N é a quantidade de exemplos do conjunto de dados.

Para encontrar subconjuntos de características de consistência elevada, será utilizado a geração adiante e a seleção sequencial adiante, como apresentado na Subseção 4.3.1. O processo termina quando a adição de uma característica resultar em diminuição do valor de consistência. Esta metodologia é análoga à utilizada por Hall e Holmes (2003). Ressalta-se ainda que, assim como nos métodos baseados em entropia, para calcular-se a consistência de um subconjunto de características, é necessário aplicar técnicas de discretização, caso os valores sejam contínuos.

4.5 Wrappers

Ao contrário da abordagem de filtros vista na seção anterior, na seleção de características utilizando *wrappers* (John et al., 1994), os algoritmos de classificação desempenham papel fundamental na redução de dimensionalidade dos dados. Eles são utilizados para avaliar os subconjuntos de características e decidir por aquele que maximize o desempenho do classificador em um determinado domínio (Kohavi e John, 1997). A principal motivação para o uso de *wrappers* é precisamente a interação entre os *bias* das técnicas de SC e dos algoritmos de AM, que podem proporcionar a seleção de subconjuntos ótimos, do ponto de vista de alguma estimativa de classificação.

Genericamente, esta abordagem é representada pela Figura 4.4. Há 3 pontos básicos a serem observados: a estratégia de busca empregada, a forma como o classificador é utilizado para avaliar as características e a escolha do algoritmo de AM. A busca por subconjuntos de características geralmente é feita de acordo com os aspectos observados na Seção 4.3. Para avaliar as características, o desempenho dos classificadores pode ser estimado por meio de um conjunto de dados de validação. É possível também fazer a avaliação com uso de propriedades intrínsecas ao algoritmo de AM, como será visto nas

subseções seguintes. Por fim, é necessário definir o algoritmo utilizado. Neste trabalho, serão consideradas exclusivamente as SVMs.

Figura 4.4: Seleção de características baseada em *wrappers*.

Os *wrappers* apresentam 3 desvantagens em relação às abordagens do tipo filtro:

1. como o algoritmo de AM é utilizado para avaliar os subconjuntos de características, ele deve ser executado diversas vezes, ocasionado um custo computacional elevado, mesmo para bases de dados de dimensão moderada;
2. quando as bases de dados possuem poucos exemplos, como no caso de dados de expressão gênica, a melhor forma de medir o desempenho de classificadores é ainda um assunto em aberto. As técnicas de validação cruzada, por exemplo, tem-se mostrado inadequadas nesta situação (Kohavi e Sommerfield, 1995) e;
3. como os *wrappers* são projetados considerando-se um algoritmo de AM específico, é necessário repetir o processo de SC sempre que outro algoritmo for utilizado.

A seguir, os *wrappers* para SVM tratados neste trabalho serão apresentados. Apesar de vários estudos recentes terem apresentado novas técnicas de SC no contexto de SVMs, o enfoque será dado a 2 deles, devido principalmente aos bons resultados relatados no domínio de expressão gênica e à disponibilidade de software para a realização de

experimentos.

4.5.1 Recursive Feature Elimination - RFE

Este método foi proposto por Guyon et al. (2002). Ele baseia-se na idéia de que as características menos relevantes para a classificação possuem pouca influência no hiperplano ótimo definido pelo algoritmo das SVMs ⁵ e podem, portanto, ser desconsideradas. Formalmente, o objetivo do RFE é encontrar um subconjunto de r características, de um total de d ($r \ll d$), tal que o desempenho do classificador seja maximizado. Isto é feito utilizando a seleção sequencial para trás, a partir do conjunto completo de características.

Cada característica é avaliada de acordo com sua influência na margem da SVM. O valor da margem é inversamente proporcional a $W^2(\alpha)$, que é função dos multiplicadores de Lagrange α_i obtidos pelo algoritmo de treinamento da SVM. O valor de $W^2(\alpha)$ é definido pela Equação 4.17 (Rakotomamonjy, 2003):

$$W^2(\alpha) = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \alpha_i \alpha_j y_i y_j K(\vec{x}_i, \vec{x}_j) \quad (4.17)$$

onde N é a quantidade de exemplos de treinamento, y_i é a classe do i -ésimo exemplo e $K(\cdot, \cdot)$ é a função de *kernel*. O critério de relevância J , para cada característica p , corresponde a quanto ela contribui para o valor de $\vec{W}(\alpha)$ e é definido por:

$$J(p) = |\vec{W}(\alpha) - \vec{W}_{-p}(\alpha)| \quad (4.18)$$

onde $\vec{W}_{-p}(\alpha)$ indica o cálculo de $\vec{W}(\alpha)$ sem a característica p . Nas SVMs lineares consideradas neste trabalho, $J(p)$ corresponde a w_p^2 , ou seja, a p -ésima componente do vetor normal ao hiperplano separador ótimo (vide Equação 3.5, do Capítulo 3).

Começando a partir do conjunto completo de características, a SVM é treinada e a característica com o menor valor de $J(p)$ é removida. A SVM é treinada novamente e $W^2(\alpha)$ é calculado outra vez. A característica com o menor valor de $J(p)$ é removida nesta nova iteração e o processo repete-se até que o número desejado r de características seja obtido.

⁵Para informações sobre SVMs, vide o Capítulo 3

4.5.2 Approximation of the zero-norm Minimization - AROM

Este método foi proposto por Weston et al. (2003b). Ele utiliza a noção de norma-0 do vetor $\vec{w}$, normal ao hiperplano separador de classificadores lineares, como SVMs, para selecionar conjuntos de características. A idéia é limitar o número de componentes w_i não-nulos e diminuir a norma- p de $\vec{w}$, mantendo o erro de treinamento pequeno. Desta forma, o número de características utilizadas e o erro de generalização do classificador podem ser minimizados simultaneamente. Formalmente, o método é representado pelo seguinte problema:

$$\begin{cases} \text{Minimizar: } \|\vec{w}\|_p \\ \text{Sujeito a: } y_i(\langle \vec{w} \cdot \vec{x}_i \rangle + b) - 1 \geq 0, \quad i = 1, \dots, N \\ \|\vec{w}\|_0 \leq r \end{cases} \quad (4.19)$$

onde $p = \{1, 2\}$ é o tipo de norma, y_i é a classe do exemplo $\vec{x}_i$, b é o termo de *bias*, N é o número de exemplos do conjunto de treinamento, a norma-0 $\|\vec{x}_i\|_0$ é a quantidade de elemento não-nulos de $\vec{x}_i$ e r é o número desejado de características. É interessante notar que este problema é semelhante (exceto pela restrição da norma-0) ao da Eq. 3.11, que corresponde ao problema de SVMs para dados linearmente separáveis.

A Eq. 4.19 pode ser aproximadamente resolvida utilizando o seguinte processo baseado em SVMs:

1. Treinar uma SVM linear.
2. Re-escalar as características multiplicando-as pelos valores absolutos dos componentes de $\vec{w}$ obtido no passo anterior.
3. Retornar ao passo 1 até que o número r de características tenha sido alcançado.

Este processo é chamado de Aproximação de Minimização de Norma Zero (AROM, do inglês *Approximation of the zero-norm Minimization*), pois o número de componentes w_i de $\|\vec{w}\|_p$ não-nulos é minimizado. Intuitivamente, o AROM altera a influência das características gradativamente, re-escalando-as em cada iteração. Assim, as características que não são necessárias para classificar corretamente os exemplos pela SVM tendem rapidamente a assumir valores muito próximos a zero. Por outro lado, as características

relevantes tendem a ganhar mais importância. Ao final do processo, apenas r características terão valores diferente de zero e, então, uma SVM poderá ser treinada com este subconjunto.

4.6 Algoritmos Genéticos para Seleção de Genes

Algoritmos Genéticos (AGs) são técnicas de busca e otimização inspiradas no processo de evolução dos seres vivos (Goldberg, 1989). Um AG simples utiliza uma população de indivíduos para resolver um dado problema. Cada indivíduo, ou cromossomo, corresponde a uma possível solução codificada do problema. Mecanismos baseados em reprodução e em mutação são aplicados à população atual para gerar uma nova. As populações vão evoluindo por diversas gerações até que um dado critério de parada seja atendido.

O algoritmo começa com uma população de indivíduos gerados aleatoriamente, que podem ser vistos como tentativas iniciais de soluções para o problema. A população é avaliada e, para cada cromossomo, uma pontuação, chamada de aptidão, é dada, refletindo a qualidade da solução associada a ele. Os indivíduos mais aptos têm maiores chances de sobreviver e, assim, serem transmitidos para a geração seguinte. O processo do AG é ilustrado na Figura 4.5:

Os AGs têm sido largamente empregados na SC (ver (Yang e Honavar, 1998) e referências ali contidas). A principal razão de sua utilização é a capacidade de realizar buscas eficientemente em um grande espaço de possibilidades, como no problema da seleção de genes em dados de expressão gênica. De fato, neste domínio, alguns trabalhos relatam resultados promissores Ooi e Tan (2003) Li e et al (2001). Neste trabalho, 2 novas abordagens são propostas. A primeira é um filtro que busca por subconjuntos de genes tal que o domínio seja melhor representado, de acordo com critérios de qualidade. A segunda é um *wrapper* para SVMs que emprega alguns resultados teóricos de SVMs para avaliar os subconjuntos de genes, do ponto de vista da classificação.

As 2 abordagens diferem apenas no cálculo da função de aptidão dos cromossomos. Assim, estas serão descritas em subseções diferentes. Os demais aspectos do AG são discutidos a seguir:

1. **Representação.** Os cromossomos são geralmente codificados na representação binária. Cada subconjunto de genes pode ser representada por cromossomo de tama-

Figura 4.5: Fluxograma de um AG simples. Adaptado de (Deb e Kalyanmoy, 2001)

nhlo m , onde m é o número total de genes do domínio. 1 ou 0 na i -ésima posição do cromossomo indica a presença ou ausência do i -ésimo gene no subconjunto.

2. **Inicialização.** Neste trabalho, todos os cromossomos são inicializados aleatoriamente com poucas posições com o valor 1. A razão disso é que acredita-se que apenas alguns genes são necessários para a classificação do problema em estudo.
3. **Mutaçao.** A mutaçao é o operador genético responsável por manter a diversidade da população. Ela opera invertendo aleatoriamente algumas posições do cromossomo, de acordo com uma probabilidade. Um valor de probabilidade comumente utilizado é $1/m$, onde m é o tamanho do cromossomo.
4. **Reproduçao.** O operador que realiza a reproduçao é chamado de cruzamento. Ele é utilizado para guiar o processo evolucionário por soluções potencialmente melhores. Ele funciona através da troca do material genético de 2 indivíduos (denominados de pais) para a geraçao de novos indivíduos (denominados de filhos), tal que estes herdem propriedades daqueles. Este processo é inspirado na reproduçao sexual dos animais. Neste trabalho, utilizou-se o cruzamento SSOFC (do inglês *Subset*

Size-Oriented Common Feature Crossover Operator) (Emmanouilidis et al., 2000).

Ele foi desenvolvido especificamente para o problema de SC e possui a vantagem de preservar porções informativas do material genético dos pais e produzir indivíduos que tenham aproximadamente a mesma distribuição daqueles.

5. **Substituição.** Os esquemas de substituição determinam como as novas populações são geradas. Neste trabalho, utiliza-se o conceito de populações sobrepostas (*overlapping populations*), segundo o qual os indivíduos novos e antigos juntam-se em uma população temporária e os melhores formaram a população da próxima geração.
6. **Seleção.** É o processo de escolher os indivíduos que irão reproduzir. Geralmente, ela prioriza as melhores soluções da população. Neste trabalho, como o esquema de substituição já prover pressão seletiva suficientemente alta, optou-se por utilizar a seleção randômica de indivíduos. (Whitley, 1994).
7. **Migração Randômica.** É um método que ajuda a manter a diversidade da população, minimizando o risco de convergência prematura do algoritmo (Congdon, 1995). Ela funciona substituindo os indivíduos cujas aptidões estão abaixo da média da população atual por novos indivíduos aleatoriamente gerados. A migração randômica é invocada quando o melhor indivíduo não muda por um certo número de gerações (chamado aqui de frequência de re-início).

4.6.1 Filtro

O filtro desenvolvido é chamado AG-Filtro (versão preliminar publicada em (de souza e de Carvalho, 2004b)). Ele utiliza apenas as características intrínsecas do conjunto de treinamento para selecionar os subconjuntos de genes. Como resultado, ele não é limitado a nenhum algoritmo de classificação específico e é eficiente. Para avaliar os subconjuntos, 2 medidas de qualidade são empregadas: um índice de validação e uma medida de impureza. A idéia é utilizar o AG para procurar por genes que melhor representem o domínio. Então, a complexidade de classificação pode ser minimizada e, ao mesmo tempo, genes importantes para a patologia em estudo podem ser revelados.

Medidas de qualidade de grupos

Seja $S = \{(\vec{x}_1, y_1), \dots, (\vec{x}_n, y_n)\}$, onde $\vec{x}_i \in X \subset R^m$ e $y_i \in \{0, 1, \dots, c\}$, um conjunto de treinamento com n exemplos e c classes. Cada $\vec{x}_i$ é um vetor de entrada de dimensão m e cada y_i corresponde à classe associada ao exemplo $\vec{x}_i$.

Cada classe é representada por um grupo de exemplos do conjunto de treinamento. Os grupos são formados por exemplos que possuem características comuns com exemplos do mesmo grupo e são bastante diferentes de exemplos de outros grupos. A (dis)similaridade entre os exemplos dos grupos é fortemente influenciada pelo conjunto de genes utilizado para representar o domínio. Por exemplo, os genes $\{a, b, c\}$ podem produzir grupos melhores que os genes $\{d, e, f\}$. Para determinar o quanto um conjunto de genes é melhor que outro, 2 medidas podem ser aplicadas: um índice de validação e uma medida de impureza.

Índice de validação

Os índices de validação Jain e Dubes (1988) são utilizados na literatura de algoritmos de particionamento para avaliar as partições geradas. Neste trabalho, o objetivo não é particionar o conjunto de dados e sim avaliar como um dado subconjunto de genes se compara com outro subconjunto, de acordo com alguns critérios. O objetivo é encontrar subconjuntos que resultem em grupos compactos internamente e separados uns dos outros.

Para isso, foi desenvolvido o índice de validação *Val_index*:

$$Val_index = \frac{1}{2n} * \left(\sum_{i=1}^c \sum_{x \in C_i} D(\vec{x}, \vec{v}_i) \right) + \frac{1}{2} * \left(1 - \min_{i,j=1, i \neq j}^c D(\vec{v}_i, \vec{v}_j) \right) \quad (4.20)$$

onde D é a distância entre 2 elementos e $\vec{v}_i$ é o centróide do i -ésimo grupo, ou seja, o elemento mais representativo do grupo. Os valores deste índice variam de 0 a 1.

Estudos recentes (Kuramochi e Karypis, 2001) (Alon et al., 1999) têm mostrado que medidas de distância baseadas em correlação são mais apropriadas a dados de expressão gênica que a distância euclidiana convencional, na medida em que elas focam na forma relativa do padrão genético e não na sua magnitude absoluta. Assim, distâncias baseadas na correlação de Pearson e no cosseno entre 2 amostras têm sido empregadas. Neste trabalho, a distância baseada na correlação de Pearson é dada pela Equação 4.21 e a distância baseada no cosseno é dada pela Equação 4.22.

$$D_{Cos}(\vec{x}_i, \vec{v}_j) = 1 - (\cos(\vec{x}_i, \vec{v}_j))^2 \quad (4.21)$$

onde $\cos(\vec{x}_i, \vec{v}_j)$ representa o cosseno entre os exemplos $\vec{x}_i$ e $\vec{v}_j$.

$$D_{Corr}(\vec{x}_i, \vec{v}_j) = 1 - (\text{abs}(\text{corr}(\vec{x}_i, \vec{v}_j))) \quad (4.22)$$

onde abs é a função que retorna o valor absoluto de seu argumento e $\text{corr}(\vec{x}_i, \vec{v}_j)$ representa a correlação de Pearson entre os exemplos $\vec{x}_i$ e $\vec{v}_j$.

Nos 2 casos, valores de D_{Cos} e de D_{Corr} próximos de 0 indicam que os exemplos estão próximos e valores próximos de 1 indicam que os exemplos estão afastados. Para calcular os centróides v_j , utiliza-se a seguinte Equação:

$$\vec{v}_j = \frac{1}{|C_j|} \sum_{\vec{x}_i \in C_j} \vec{x}_i \quad (4.23)$$

onde $|C_j|$ é a número de exemplos da classe j .

Assim, a Eq. 4.20 mede quão compactos são os grupos internamente e quão separados eles estão uns dos outros, de acordo com a distância utilizada. O índice varia de 0 a 1, onde baixos valores indicam melhores grupos.

Medida de impureza

O índice Gini tem sido comumente utilizado para medir a impureza de uma dada partição de árvores de decisão (Breiman et al., 1984). Neste trabalho, ele é utilizado para medir quão bem um subconjunto de genes representa os grupos do conjunto de treinamento. Por exemplo, ele assume valores baixos se os exemplos de uma classe forem mais similares aos exemplos do grupo que representa aquela classe do que aos exemplos de grupos que representam outras classes. Desta forma, ele pode ser encarado como um indicativo da qualidade dos grupos.

O índice Gini para um grupo G_j é definido como:

$$Gini_j = 1 - \sum_{i=1}^c \left(\frac{P_{ji}}{n_j} \right)^2, \quad j = 1, \dots, c \quad (4.24)$$

onde P_{ji} é o número de exemplos do grupo j classificados como pertencentes à classe i e n_j é o número total de exemplos do grupo j . A classificação das amostras é baseada em sua proximidade aos centróides dos grupos.

A impureza combinada dos grupos é dada pela Equação 4.25:

$$Impureza = \frac{\sum_{j=1}^c T_{P_j} * Gini_j}{n} \quad (4.25)$$

onde T_{P_j} é a probabilidade de um exemplo pertencer ao grupo j e n é o número total de exemplos do conjunto de treinamento.

Função de aptidão

Um dos aspectos mais críticos dos AGs é a função de aptidão. Uma boa função para o problema da seleção de genes deve focar em subconjuntos que produzam bons grupos de exemplos no conjunto de treinamento e que sejam compactos. Assim, a qualidade de uma solução é avaliada de acordo com a medida de impureza e o índice de validação apresentados anteriormente. A função de aptidão (que deve ser minimizada) associada a um subconjunto λ de genes é expressa por:

$$Aptidao(\lambda) = b_1 * Impureza(\lambda) + b_2 * Val_indice(\lambda) + b_3 * dim(\lambda) \quad (4.26)$$

onde $Impureza(\lambda)$ é a medida de impureza definida pela Equação 4.25 com respeito ao subconjunto λ , $Val_indice(\lambda)$ é o índice de validação definido pela Equação 4.20 com respeito ao subconjunto λ , $dim(\lambda)$ é o de genes selecionados em λ e b_1 , b_2 e b_3 são termos de regularização.

Dependendo da distância utilizada para calcular a Equação 4.20, 2 versões do AG-Filtro pode ser utilizadas: o AG-Filtro Cos, que utiliza a distância definida na Equação 4.21 e AG-Filtro Corr, que utiliza a distância definida na Equação 4.22. Esta nomenclatura será utilizada pelo resto do texto.

4.6.2 Wrapper

O *wrapper* desenvolvido neste trabalho chama-se AG-SVM e uma versão preliminar dele foi publicada em (de Souza et al., 2004). O AG-SVM baseia-se em alguns resultados teóricos de SVMs para selecionar subconjuntos de genes que proporcionem um bom desempenho de classificação. Para isso, a função de aptidão do AG deve explorar explicitamente alguma estimativa de desempenho de SVMs utilizando apenas o conjunto de treinamento.

Há várias dessas estimativas disponíveis, como a razão raio/margem (Vapnik, 1995), o conceito de *span* de vetores de suporte (Vapnik e Chapelle, 2000), a dimensão VC (Vapnik, 1995), o estimador ξ_α (Joachims, 2000) e o GACV (Wahba, 1999), entre outros. Em uma

comparação entre todos estes métodos para fazer a seleção de valores de parâmetros de SVMs, et al (2002) constatou que o estimador $\xi\alpha$ apresentou bons resultados em estimar o desempenho de SVMs, além de ser pouco custoso computacionalmente. Assim, escolheu-se o esta estimativa como base do AG-SVM.

O estimador $\xi\alpha$ foi concebido como sendo uma aproximação do erro de validação cruzada do tipo LOOCV (esta abordagem é detalhadamente explicada no Capítulo 5). Ele é definido pela Equação 4.27:

$$Erro_{\xi\alpha}^n = \frac{|i : (\rho\alpha_i R_{\Delta}^2) \geq 1|}{n} \quad (4.27)$$

onde n é a quantidade de exemplos no conjunto de treinamento, $\rho = 2$, $\vec{\alpha}$ and $\vec{\xi}$ são os multiplicadores de Lagrange e a variáveis de folga, respectivamente, obtidos com a resolução do Problema 3.20 do Capítulo 3 e R_{Δ}^2 é um limite superior de $k(\vec{x}, \vec{x}) - k(\vec{x}, \vec{z})$, $\forall \vec{x}, \vec{z}$. $\vec{x}$ e $\vec{z}$ são exemplos de treinamento.

Quanto menor o valor de $Erro_{\xi\alpha}^n$ melhor o desempenho estimado das SVMs. Assim, a solução óbvia para o problema de seleção de genes seria procurar por aqueles genes que minimizassem $Erro_{\xi\alpha}^n$. Entretanto, experimentos preliminares mostraram que essa não é uma boa solução. A razão disto é que quando há poucos exemplos de treinamento e o domínio apresenta uma dimensionalidade muito grande, é trivial encontrar subconjuntos de características tal que $Erro_{\xi\alpha}^n = 0$. Entretanto, para exemplos não vistos durante o treinamento, o desempenho de classificação pode ser extremamente baixo, caracterizando o *overfitting* comentado no Capítulo 3. Assim, é necessário utilizar uma abordagem mais robusta para selecionar subconjuntos de genes.

A estratégia adotada combina o $Erro_{\xi\alpha}^n$ e algumas idéias utilizadas pela técnica RFE vista anteriormente. O RFE seleciona as características de acordo com a influência das mesmas na margem da SVM. Neste trabalho, desenvolvem-se um *wrapper* que seleciona subconjuntos tal que $Erro_{\xi\alpha}^n$ seja minimizado e os genes tenham grande influência na margem da SVM. A abordagem é como segue: inicialmente, uma SVM é treinada com todos os genes e o hiperplano separado ótimo é encontrado. O hiperplano é definido por uma vetor $\vec{W}$. A cada gene i , é associado um valor w_i^2 , que corresponde ao quadrado da i -ésima componente do vetor $\vec{W}$. Este valor indica a influência do gene i na margem da SVM. Em seguida, os genes são dispostos em ordem crescente de acordo com os valores de w_i^2 e armazenados em um vetor $\vec{O}$.

A intenção é selecionar genes com grandes valores de w_i^2 . Assim, para cada subcon-

junto de genes avaliado, considera-se aquele que possua o valor mediano de w_i^2 naquele subconjunto e verifica-se em que posição de ranking ele se encontra no vetor $\vec{O}$. Depois, divide-se essa posição pela posição máxima em que ele pode se encontrar, que é a quantidade total de genes e obtém-se um valor normalizado entre 0 e 1 da influência daquele gene na margem da SVM. Valores mais altos indicam maior influência do gene em relação aos demais. Assim, aumentando o valor de ranking normalizado do gene mediano, aumenta-se a relevância do subconjunto como um todo.

Função de aptidão

A função de aptidão do AG-SVM para um subconjunto λ é definida pela Equação 4.28:

$$Aptidao(\lambda) = b_1 * Erro_{\xi\alpha}^n(\lambda) + b_2 * (1 - Rank_{normal}(\lambda)) + b_3 * dim(\lambda) \quad (4.28)$$

onde $Erro_{\xi\alpha}^n(\lambda)$ é a estimativa definida pela Equação 4.27 com respeito ao subconjunto λ , $Rank_{normal}(\lambda)$ é o valor do rank normalizado do gene mediano do subconjunto λ , $dim(\lambda)$ é o de genes selecionados em λ e b_1 , b_2 e b_3 são termos de regularização.

4.7 Considerações Finais

Neste Capítulo, os conceitos principais sobre seleção de características foram apresentados. Inicialmente, um conceito formal para o problema foi introduzido. Em seguida, uma taxonomia baseada em diversos critérios foi apresentada. As diversas técnicas utilizadas neste trabalho (tanto filtros como *wrappers*) foram abordadas. Por fim, os métodos desenvolvidos pelo autor foram apresentadas.

Experimentos

5.1 Considerações Iniciais

Este Capítulo apresenta os experimentos realizados neste trabalho. O objetivo é realizar um estudo comparativo entre as diversas técnicas de SC apresentadas anteriormente aplicadas ao problema da seleção de genes. Para tanto, são utilizadas bases reais de dados de expressão gênica provenientes de experimentos de *microarrays*. Os critérios utilizados para avaliar os resultados são o erro da SVM quando treinada com os subconjuntos de genes selecionados pelos algoritmos e a taxa de redução de dimensionalidade do domínio.

O Capítulo está organizado como segue. Inicialmente, a metodologia aplicada na condução dos experimentos é detalhada. Posteriormente, os conjuntos de dados utilizados são descritos. Em seguida, os resultados são apresentados para todas as bases de dados e algumas considerações são feitas. Por fim, as conclusões do Capítulo são apresentadas.

5.2 Metodologia

5.2.1 Descrição Geral

A metodologia descrita a seguir é baseada no trabalho de Ambroise e McLachlan (2002). Os autores estudaram a forma até então comumente empregada para avaliar métodos de seleção de genes em dados de *microarray* e observaram uma deficiência que pode levar a conclusões errôneas acerca do desempenho dos algoritmos: o *bias* de seleção. Ele ocorre quando os métodos de SC são aplicados sobre todo o conjunto de dados, que depois é particionado em conjuntos de treinamento e teste e a avaliação do desempenho do classificador treinado com o subconjunto selecionado é realizada. Como a seleção foi feita anteriormente à partição dos dados, o conjunto de teste foi utilizado indevidamente e, consequentemente, a taxa de erro de classificação tende a ser menor que a verdadeira.

Para corrigir o problema, os autores do trabalho sugerem que os métodos de SC sejam embutidos em um esquema de validação cruzada. A validação cruzada de fator k (do inglês *k-fold cross validation*) é utilizada comumente para estimar o desempenho de algoritmos de AM e fazer comparações de desempenho entre eles (Duda et al., 2000). Quando k for igual à quantidade de exemplos no conjunto de dados, a validação cruzada é chamada de LOOCV (do inglês *leave-one-out cross validation*) (Duda et al., 2000). O esquema consiste em dividir aleatoriamente os conjuntos de dados em k partições mutuamente exclusivas de exemplos e de tamanho aproximadamente igual. No procedimento implementado, a mesma proporção de classes do conjunto de dados completo é mantida em cada partição. Das k partições, $k - 1$ são utilizadas para o treinamento do algoritmo de AM e a restante é utilizada para teste. O processo é repetido k vezes, em cada uma trocando a partição utilizada no teste. O percentual de exemplos classificados incorretamente em cada partição de teste é somado e dividido por k e obtém-se uma estimativa da taxa de erro do classificador.

No contexto da SC, as técnicas devem ser aplicadas em cada partição da validação cruzada e, em seguida, o classificador treinado utilizando os dados com a dimensão reduzida é utilizado para avaliar os exemplos de teste. Embora os genes selecionados em cada partição possam ser diferentes, o desempenho dos métodos pode ser estimado de uma maneira honesta. A Figura 5.1 ilustra a metodologia completa utilizada neste trabalho.

Figura 5.1: Metodologia utilizada nos experimentos.

Após a seleção de características, há uma etapa de seleção de valores dos parâme-

tros. Peterson (2004) avaliou o impacto do tipo de *kernel* e os valores dos parâmetros no desempenho de SVMs no domínio de expressão gênica por *microarrays*. Ele concluiu que, quando da utilização do *kernel* linear, considerado neste trabalho, variações no único parâmetro ajustável, o C , não produzem diferenças de desempenho estatisticamente significativas. Em todo caso, para garantir que o desempenho da SVM treinada com os subconjuntos de genes selecionados pelos diversos métodos fosse maximizado, optou-se por selecionar o valor de C que apresentasse o melhor desempenho em um esquema de LOOCV aplicado na partição de treinamento. Foram considerados $C = \{1, 10, 100, 1000\}$. No caso das técnicas utilizando AG, o $C = 1000$ não foi considerado, pois ocasionava um custo computacional demasiadamente elevado. O valor que apresentar o menor erro é selecionado. No caso das abordagens do tipo filtro, o processo de seleção de valores de parâmetros ocorre depois da seleção de genes. No caso das abordagens do tipo *wrapper*, as seleções de parâmetro e de genes ocorrem concomitantemente, pois o valor de C influencia no processo de SC.

A maioria dos algoritmos experimentados aqui não é capaz de determinar automaticamente o número de genes a ser selecionado. De fato, apenas o CFS, a Consistência e as abordagens baseadas em AG o são. Nos demais casos, adotou-se a seguinte estratégia para determinar a dimensionalidade ótima: para cada base de dados, seleciona-se subconjuntos de 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 e 256 genes. Em cada uma das 10 partições de dados geradas, o erro de LOOCV na partição de treinamento é calculado e, ao final, tem-se 10 erros. A média destes é então utilizada para determinar o número de genes final. O número que apresentar menor média do erro de LOOCV é escolhido. Em caso de empate, o menor número é preferido.

Para os experimentos realizados neste Capítulo, os dados foram colocados em escala entre 0 e 1. Na abordagem de filtros, este processo é efetuado depois da aplicação da SC (exceto quando da utilização da técnica ReliefF, que requer que o processo seja feito antes). Nas abordagens de *wrapper*, o processo é efetuado antes da aplicação da SC, pois o processo de otimização das SVMs trabalha melhor com os dados assim representados.

5.2.2 Teste estatístico

Para aferir a significância estatística dos experimentos realizados neste Capítulo, utilizou-se o teste t pareado baseado em validação cruzada de fator 10 (Dietterich, 1998). Este teste

é utilizado para determinar se há diferença entre as técnicas de seleção de características utilizados. Para sua aplicação, os dados devem encontrar-se particionados em 10 conjuntos disjuntos de treinamento e teste, criados conforme o processo de validação cruzada visto anteriormente. Sendo A e B 2 classificadores treinados com características selecionadas por 2 métodos distintos de SC, ambos são treinados nos primeiros conjuntos e testados nos segundos. Assim, sejam $p_A^{(i)}$ e $p_B^{(i)}$ as proporções observadas de exemplos classificados incorretamente por A e B, respectivamente, no i -ésimo conjunto de teste. Assumindo que as diferenças $p^{(i)} = p_A^{(i)} - p_B^{(i)}$ são amostradas independentemente de uma distribuição normal, então pode-se aplicar o teste t , calculando a seguinte estatística:

$$t = \frac{\bar{p}\sqrt{n}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (p^{(i)} - \bar{p})^2}{n-1}}} \quad (5.1)$$

onde $\bar{p} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n p^{(i)}$ e $n = 10$. Sobre a hipótese nula de que ambos os classificadores apresentam a mesma taxa de erro, a estatística t tem uma distribuição t com $n - 1$ graus de confiança. A hipótese nula é rejeitada se $|t| > t_{n-1, \alpha}$, onde α representa o nível de confiança no teste. Comumente, utiliza-se $\alpha = 0,05$, indicando uma confiança de 95%.

Embora o teste t baseado em validação cruzada apresente alguns problemas relacionados à suposição de independência dos dados (Dietterich, 1998), ele tem sido recentemente utilizado com sucesso para validar os resultados de métodos de SC no domínio de dados de expressão gênica (Potamias et al., 2004) (Inza et al., 2004).

5.2.3 Métodos e seus parâmetros

Os métodos empregados neste estudo comparativo são aqueles apresentados no Capítulo 4, a saber: CFS, Consistência, Taxa de Ganho (TG), Golub, Info, ReliefF, TNoN, Wilcoxon, AROM e RFE. Os 8 primeiros são do tipo filtro e os 2 últimos são do tipo *wrapper*. São também utilizadas as técnicas propostas baseadas em AGs. O filtro é estudado em suas 2 versões: o AG-Filtro Corr e o AG-Filtro Cos. O *wrapper* é o AG-SVM.

No ReliefF, 2 parâmetros precisam ser definidos pelo usuário. O primeiro é o número k de vizinhos observados para realizar as estimativas de qualidade das características. Seguindo a recomendação de Kononenko (1994), em todos os experimentos tem-se $k = 10$. Este valor também é o padrão do ambiente Weka (Witten e Frank, 2000), utilizada nos experimentos dos métodos CFS, Consistência, TG e ReliefF. O segundo parâmetro é o número m de iterações do algoritmo. Em cada iteração, um exemplo é selecionado e

seus vizinhos são encontrados. Aqui, m é igual ao número de exemplos do conjunto de treinamento e cada exemplo é selecionado uma vez (Yu e Liu, 2004).

Os AGs utilizados apresentam diversos parâmetros a serem selecionados, como a quantidade de indivíduos da população, o número de gerações pelas quais o algoritmo deve ser executado, os pesos dos componentes da função de aptidão, etc. Infelizmente, não há um consenso sobre uma maneira sistemática de escolher os melhores valores destes parâmetros. O que há disponível na literatura é uma série de recomendações e estudos de caso que mostram que determinados valores podem ser adequados em certos domínios e sob condições específicas. Isso faz com que o projetista do AG precise despende considerável esforço e tempo ajustando os parâmetros para a sua aplicação. As Tabelas 5.1 e 5.2 mostram os valores escolhidos após alguns estudos empíricos, para as versões do AG-Filtro e para o AG-SVM, respectivamente.

Tabela 5.1: Parâmetros utilizados pelas 2 versões do AG-Filtro

População	Gerações	Prob. Cruzamento	b_1, b_2, b_3	Freq. re-início
200	600	0.8	0.7, 0.2, 0.1	25

Com relação aos parâmetros da função de aptidão das 2 versões do AG-Filtro, alguns aspectos devem ser observados. Claramente, o mais importante termo da Equação 4.26 é o $Val_indice(\lambda)$, na medida em que ele reflete a qualidade geral dos agrupamentos. O termo $Impureza(\lambda)$ é utilizado para assegurar que o subconjunto de genes avaliado não represente de maneira errada os agrupamentos, ou seja, que exemplos de uma classe sejam mais similares aos agrupamentos de outras classes. O termo $Val_indice(\lambda)$ reduz esse problema, mas não pode evitar sua ocorrência. Assim, $Impureza(\lambda)$ é empregado. Finalmente, subconjuntos compactos de genes são preferidos, dado que os outros requerimentos não sejam afetados. Os valores de b_1, b_2 e b_3 refletem todas estas observações.

Considerações semelhantes podem ser feitas no caso do AG-SVM, onde o valor de $Erro_{\xi\alpha}^n(\lambda)$ é o mais importante. O termo $(1 - Rank_normal(\lambda))$ serve para refinar a busca, permitindo que subconjuntos com valores iguais de $Erro_{\xi\alpha}^n(\lambda)$ possam ser distinguidos. Por fim, um número reduzido de genes é almejado. Os valores dos parâmetros podem ser visualizados na Tabela 5.2.

Os demais métodos não possuem parâmetros a serem ajustados. Além do Weka, foram utilizados a biblioteca em C/C++ galib (Wall, 1996), LIBSVM (Chang e Lin, 2001) e

Tabela 5.2: Parâmetros utilizados pelo AG-SVM

População	Gerações	Prob. Cruzamento	b_1, b_2, b_3	Freq. re-início
100	400	0.8	0.7, 0.2, 0.1	25

SVMLight (Joachims, 1998), para os experimentos envolvendo os AGs. Os métodos Info, TNoX e Wilcoxon foram testados com o auxílio da ferramenta ScoreGenes (Ben-Dor et al., 2000b). O RFE e o AROM estão implementados em Matlab na ferramenta de AM conhecida como Spider (Weston et al., 2003a).

Como os AGs são métodos estocásticos, não há garantias de que os mesmos conjuntos de genes sejam selecionados em diferentes execuções do algoritmo. Entretanto, para fins de comparação com outros métodos de SC, é útil ter-se apenas um subconjunto selecionado em cada partição do esquema de validação cruzada. Assim, os AGs são executados 5 vezes para cada partição e o indivíduo com melhor função de aptidão é mantido como a solução final, que será comparada com aquelas geradas pelas outras técnicas.

5.2.4 Objetivos

Os experimentos realizados neste Capítulo têm os seguintes objetivos específicos:

- Comparar o desempenho de diversas técnicas de SC aplicadas a SVM, considerando-se tanto a taxa de erro do classificador quanto a taxa de redução de dimensionalidade do domínio. As bases de dados utilizadas são provenientes de experimentos de *microarrays*.
- Conforme visto no Capítulo 4, os dados de expressão gênica possuem certas propriedades que permitem supor que a aplicação de métodos de SC seja capaz de trazer benefícios para a classificação utilizando algoritmos de AM, como SVMs. Assim, também é objetivo deste capítulo verificar empiricamente se tal suposição pode ser concebida como verdadeira.
- Durante este trabalho, desenvolveu-se 2 abordagens de SC baseadas em AGs, uma que se enquadra na concepção de filtros e a outra na concepção de *wrappers*. Este capítulo visa à comparação destes com abordagens comumente encontradas na literatura de SC para dados de expressão gênica.

- Há uma enorme variedade de técnicas de SC disponíveis. Neste trabalho, 13 são consideradas. Como cada um possui um *bias* distinto, assim como as bases de dados possuem diferentes características, pretende-se ainda recomendar que técnica utilizar em cada caso, afim de minimizar o erro de classificação.

5.3 Bases de dados

Todas as bases de dados utilizadas neste trabalho foram obtidas através de experimentos reais de *microarrays*. A maioria delas tem sido comumente utilizada na avaliação de técnicas de SC. Isto facilita a comparação entre as diversas abordagens encontradas na literatura. A seguir, as 5 bases experimentadas são brevemente comentadas.

- **Leucemia.** A base de dados de leucemia aguda têm sido largamente estudada (Golub et al., 1999b). Ela consiste na expressão de 72 amostras obtidas a partir de *microarrays* de oligonucleotídeo contendo RNA de 6817 genes humanos. A tarefa é discriminar entre leucemia mielóide aguda (AML, do inglês *acute myeloid leukemia*) e leucemia linfoblástica aguda (ALL, do inglês *acute lymphoblastic leukemia*). A base contém 47 amostras ALL e 25 amostras AML. Seguindo procedimentos padrão de pré-processamento (Dudoit et al., 2002), todos os genes tiveram seu valor mínimo de expressão em 100 e seu valor máximo em 16000. Os genes g tal que $\text{maximo}(g)/\text{minimo}(g) \leq 50$ ou $\text{maximo}(g) - \text{minimo}(g) \leq 500$ foram descartados. Assim, a base de dados finais compreende 3751 genes. Os dados podem ser obtidos em http://www.broad.mit.edu/cgi-bin/cancer/publications/pub_paper.cgi?mode=view&paper_id=43
- **Linfoma.** O linfoma difuso de célula grande B é um grupo heterogêneo de tumor, de acordo com variações significativas na morfologia, na representação clínica e na resposta aos tratamentos (Lossos et al., 2000). Utilizando *microarrays* de DNA complementar, et al (2000) identificaram 2 forma molecularmente distintas de linfoma: o linfoma B de centro germinativo (GC, do inglês *Germinal Centre B-like*) e o linfoma B ativado (AB, do inglês *Activated B-like*). A base contém 24 amostras GC e 23 amostras AB, representados por 4026 genes. Os dados podem ser obtidos em <http://lmpp.nih.gov/lymphoma/>

- **Cólon.** Esta base compreende 62 amostras provenientes de *microarrays* de oligonucleotídeos que medem os níveis de expressão de 6500 genes humanos. Há 22 amostras normais e 40 amostras com câncer de cólon. Alon et al. (1999) forneceram a base de dados com 2000 genes, depois da eliminação daqueles com baixa intensidade do sinal. Os dados podem ser obtidos em <http://microarray.princeton.edu/oncology/affydata/index.html>
- **Glioma.** Nutt et al. (2003) estudaram a possibilidade de utilizar dados de expressão gênica para classificar gliomas de alto grau. O seu esquema de classificação foi capaz de discriminar objetivamente tumores gliais não convencionais, conseguindo taxas de acerto maiores que as técnicas baseadas em histopatologia. A base de dados consiste em 50 amostras provenientes de *microarray* de oligonucleotídeo, contendo RNA de aproximadamente 12600 genes. Há 14 glioblastomas (GB) convencionais e 7 oligodendrogliomas anaplásicos convencionais (OA). Há ainda 14 GB não-convencionais e 15 OA não-convencionais. Os dados são pré-processados tal que todos os genes tiveram seu valor mínimo de expressão em 100 e seu valor máximo em 16000. Aqueles genes g cujo $\max(g)/\min(g) \leq 3$ ou $\max(g) - \min(g) \leq 100$ foram descartados, restando 4434 genes. Os dados podem ser obtidos em http://www.broad.mit.edu/cgi-bin/cancer/publications/pub_paper.cgi?mode=view&paper_id=82
- **Mama.** Dentre as diversas classificações dos tumores de mama, pode-se destacar aquelas que consideram o estrogênio para o desenvolvimento do tumor. Os casos em que o hormônio provoca o crescimento desordenado das células são chamados de ER+ (do inglês *Estrogen Receptor positive*). Aqueles em que o hormônio não influencia o tumor são conhecidos como ER- (do inglês *Estrogen Receptor negative*). Ambos possuem características genéticas distintas que podem elucidar o funcionamento do tumor e ajudar em seu diagnóstico e prognóstico. West et al. (2001) utilizaram *microarrays* de DNA complementar de 49 pacientes. Em 5 casos, os autores do estudo identificaram que a classificação utilizando as técnicas de imunohistoquímica e de *Western Blotting* apresentaram resultados conflitantes. Assim, decidiu-se excluir estas amostras dos experimentos aqui realizados. A tarefa é discriminar entre 22 amostras ER+ e 22 amostras ER-. Todos os genes tiveram seu valor mínimo de expressão em 100 e seu valor máximo em 16000. Os genes g tal

que $\text{maximo}(g)/\text{minimo}(g) \leq 50$ ou $\text{maximo}(g) - \text{minimo}(g) \leq 500$ foram descartados, restando 5146 genes, de um total de 7129. Os dados podem ser obtidos em <http://data.cgt.duke.edu/west.php>

A fim de facilitar referências futuras, a Tabela 5.3 resume a descrição numérica das bases de dados utilizadas.

Tabela 5.3: Descrição numérica das bases de dados

Base de dados	Número de Amostras	Classe +	Classe -	Número de Genes
Leucemia	72	25 AML	47 ALL	3571
Linfoma	47	24 GC	23 AB	4026
Cólon	62	22 normais	40 tumores	2000
Glioma	50	28 GB	22 OA	4434
Mama	49	22 ER+	22 ER+	5146

5.4 Resultados Experimentais

Neste Seção, os resultados obtidos nos experimentos conduzidos são apresentados. Para sua melhor visualização, eles são dispostos de maneira tabular, organizados por bases de dados. Assim, para cada uma das 5 bases utilizadas, há 3 tabelas. A primeira exhibe os erros percentuais médios de LOOCV obtidos pelas técnicas TG, Golub, Info, ReliefF, TNoN, Wilcoxon, AROM e RFE. São considerados subconjuntos de diferentes dimensionalidades. Com estas informações, é possível determinar o número ótimo de genes selecionados para cada método aplicado a uma base específica. Destaca-se em negrito o menor erro de LOOCV. Se houver mais de um caso com o mesmo erro, aquele com menor número de genes é destacado.

A segunda tabela contém os erros percentuais (média e desvio padrão) das SVMs nas 10 partições de teste para cada técnica de SC. É mostrado também o erro utilizado-se todos os genes. Ao lado dos erros obtidos para cada técnica, há um símbolo indicando sua significância estatística em relação ao conjunto completo de genes. Ela é calculada de acordo com o teste t pareado baseado em validação cruzada de fator 10, com 95% de confiança. O símbolo $\diamond$ indica que não ha diferença estatística entre ambos. O símbolo Δ

indica que o método de SC é estatisticamente superior. O símbolo ∇ indica que a técnica de SC é estatisticamente inferior. É exibido ainda o número (média/desvio padrão) de genes selecionados por cada método. Quando o desvio padrão é 0, o mesmo número de genes é selecionado em todas as partições.

A terceira tabela compara o desempenho entre as abordagens propostas e as demais técnicas. Ela apresenta dados indicando se a diferença entre os erros observados utilizando-se as técnicas é estatisticamente significativa ou não. A notação de $\diamond$, Δ e ∇ comentada anteriormente também é utilizada aqui, indicando se o método proposto é igual, melhor ou pior. Ela também informa a relação entre as quantidades de genes selecionadas pelos métodos. Quando o sinal - está presente, o método proposto selecionou menos genes. Quando o sinal + está presente, ocorreu o inverso. A comparação é realizada aos pares.

5.4.1 Leucemia

Como pode ser visto na Tabela 5.4, a maioria dos métodos que não determina automaticamente o número de genes a serem selecionados apresenta as menores taxas de erros com muitos genes. Em todos os casos, os erros utilizando-se menos de 32 genes são altos. Isto ocorre porque quando poucos genes são considerados, cada um tem uma grande influência no erro. Se os genes não forem realmente relevantes para o problema, o desempenho do classificador pode ser prejudicado. Em contrapartida, quando há muitos genes, mesmo que nem todos sejam importantes, a interação entre eles pode trazer benefícios para a classificação. A partir de 32 genes há uma tendência de que o erro decresça à medida que se aumenta o número de genes.

É importante lembrar que a taxa de redução de dimensionalidade é muito importante no domínio de expressão gênica, pois identificar um conjunto compacto de genes relevantes para o problema ajuda a racionalizar o emprego de tempo, de recursos financeiros e de pessoal nas pesquisas.

A Tabela 5.5 mostra que o emprego de técnicas de SC é vantajoso na base de leucemia. Das 13 técnicas estudadas, 11 conseguiram reduzir a dimensionalidade sem sacrificar o desempenho de classificação da SVM. O AG-Filtro Corr e a Consistência apresentaram desempenho estatisticamente inferior em relação ao conjunto completo de genes. O fato do AG-Filtro Corr não ter obtido bom resultado nesta base deve ser interpretado como um indicativo de que a distância baseada em correlação não é apropriada para este caso,

Método	Número de genes							
	2	4	8	16	32	64	128	256
TG	4,77	5,07	4,94	4,00	2,77	2,92	2,15	1,85
Golub	4,47	3,54	2,77	4,16	3,38	1,38	1,54	1,38
Info	5,08	4,46	5,55	2,77	2,31	2,76	2,00	1,54
ReliefF	8,16	6,47	4,47	3,24	3,24	2,00	2,15	1,69
TNoN	3,69	3,84	4,47	2,77	2,30	2,62	1,84	1,69
Wilcoxon	3,85	2,62	4,47	3,08	2,76	2,00	1,85	1,38
AROM	-	-	0,15	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
RFE	2,92	1,07	0,15	0,15	0,46	0,00	0,00	0,30

Tabela 5.4: Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de leucemia.

Método	Número de genes	Erro (%)
	(Média/Desvio)	(Média/Desvio)
Completo	3571/0	2,678/5,37
AG-Filtro Corr	10,00/1,26	8,03/6,59 ▽
AG-Filtro Cos	3,50/0,5	3,92/6,01 ◇
CFS	33,60/14,86	5,17/8,46 ◇
Consistência	2,70/0,45	15,05/12,12 ▽
TG	256	3,92/6,01 ◇
Golub	64/0	3,92/6,01 ◇
Info	256/0	3,92/8,21 ◇
ReliefF	256/0	2,67/5,37 ◇
TNoN	253/0	3,92/6,01 ◇
Wilcoxon	256/0	5,17/8,46 ◇
AG-SVM	15,60/1,80	5,35/9,17 ◇
AROM	32/0	2,67/5,66 ◇
RFE	64/0	4,10/6,63 ◇

Tabela 5.5: Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de leucemia.

e não como uma falha das abordagens baseadas em AG. De fato, tanto a versão do filtro baseada no cosseno quanto o *wrapper* propostos apresentaram resultados de classificação satisfatórios e com um número muito reduzido de genes.

Na Tabela 5.6, as técnicas propostas são comparadas com as demais abordagens na base de leucemia. O AG-Filtro Corr apresentou desempenho estatisticamente inferiores a 3 métodos e manteve-se igual aos restantes. O AG-SVM foi estatisticamente superior a Consistência e manteve desempenho igual ao dos demais métodos, embora tenha selecionado menos genes que a grande maioria deles. Dentre as abordagens *wrappers*, ele foi o que selecionou o conjunto mais compacto de genes, com diferença de no mínimo 2 vezes. O AG-Filtro Cos foi particularmente bem nesta base de dados. Ela foi estatisticamente superior a 2 métodos e selecionou o menor número de genes entre os métodos de desempenho igual a ele. Desta forma, dados os resultados das Tabelas 5.6 e 5.5, o AG-Filtro Cos é o método recomendado para a base de leucemia.

Método	AG-Filtro Corr	AG-Filtro Cos	AG-SVM
AG-Filtro Corr	$\diamond (0,00x)$	$\Delta (-2,85x)$	$\diamond (+1,56x)$
AG-Filtro Cos	$\nabla (+2,85x)$	$\diamond (0,00x)$	$\diamond (+4,45x)$
CFS	$\diamond (-3,36x)$	$\diamond (-9,60x)$	$\diamond (-2,15x)$
Consistência	$\diamond (+3,70x)$	$\Delta (+1,29x)$	$\Delta (+5,77x)$
TG	$\diamond (-25,60x)$	$\diamond (-73,14x)$	$\diamond (-16,41x)$
Golub	$\diamond (-6,40x)$	$\diamond (-18,28x)$	$\diamond (-4,10x)$
Info	$\diamond (-25,60x)$	$\diamond (-73,14x)$	$\diamond (-16,41x)$
ReliefF	$\nabla (-25,60x)$	$\diamond (-73,14x)$	$\diamond (-16,41x)$
TNoN	$\diamond (-25,30x)$	$\diamond (-72,28x)$	$\diamond (-16,21x)$
Wilcoxon	$\diamond (-25,60x)$	$\diamond (-73,14x)$	$\diamond (-16,41x)$
AG-SVM	$\diamond (-1,56x)$	$\diamond (-4,45x)$	$\diamond (0,00x)$
AROM	$\nabla (-3,20x)$	$\diamond (-9,14x)$	$\diamond (-2,05x)$
RFE	$\diamond (-6,40x)$	$\diamond (-18,28x)$	$\diamond (-4,10x)$

Tabela 5.6: Comparação entre os métodos propostos. Base de leucemia

5.4.2 Linfoma

A Tabela 5.7 exibe os erros de LOOCV da base de linfoma considerando subconjuntos de genes de diferentes dimensionalidades. Assim como ocorreu no caso da leucemia,

observa-se uma tendência geral de diminuição do erro à medida que o número de genes aumenta. Nesta base, as abordagens do tipo *wrapper* apresentaram erro de LOOCV bastante reduzido. O AROM, apresentou erro zero em todos os casos. Quando o número de genes é inferior a 8, o algoritmo não convergiu. Isto ocorreu devido à limitação da implementação utilizada de só conseguir lidar com dados linearmente separáveis. Em dimensões reduzidas, isto se tornar mais difícil. O RFE matém o erro em zero a partir de 16 genes.

Analisando a Tabela 5.8, verifica-se que a expectativa gerada pelas baixas taxas de erro de LOOCV no caso dos *wrappers* não se confirmou. Os 3 métodos desta abordagem apresentaram erros de testes inferiores aos filtros, em média. A exceção é o AG-Filtro Cos, que mostrou-se inadequado para essa base, sendo estatisticamente inferior ao conjunto completo de genes. Todos os demais métodos lograram um desempenho de classificação igual ao conjunto completo de genes.

Comparando-se as abordagens baseadas em AG, cujos dados são apresentados na Tabela 5.9, constata-se que as abordagens AG-Filtro Cos e AG-SVM apresentam desempenho inferior à maioria dos filtros utilizados e desempenho igual a todos os *wrappers*. Em contraste, o AG-Filtro Corr tem taxas de erros estatisticamente iguais aos demais métodos e é superior ao AG-Filtro Cos. O número de genes selecionados por ele é menor em 7 situações e maior em 5. A Consistência selecionou o menor número de genes para esta base de dados e não apresenta diferença estatística de desempenho em relação ao método que obteve o menor erro médio (0.00), o ReliefF. Assim, no caso do linfoma, o método de SC recomendado é a Consistência.

5.4.3 Cólon

Através da Tabela 5.10, percebe-se que, para a base de cólon, o número ótimo de genes assume valores medianos. Na maioria dos métodos de SC utilizados, subconjuntos com poucos genes levam a erros de LOOCV elevados. O mesmo ocorre, entretanto menos severamente, quando se utiliza muitos genes, devido à introdução de genes possivelmente não relacionados ao fenómeno em estudo. Assim, os melhores erros nas abordagens de filtro ocorrem quando se utiliza 16 ou 32 genes. O RFE necessita de 32 genes para conseguir seu menor erro. O AROM requer 64 genes. Este último método não convergiu com subconjuntos com menos de 16 genes. Isto mostra que esta base de dados é complexa

Método	Número de genes							
	2	4	8	16	32	64	128	256
TG	4,71	3,99	4,48	3,30	2,34	0,70	0,47	1,16
Golub	3,53	2,12	1,17	0,70	0,46	0,94	1,64	2,12
Info	4,96	5,19	4,95	3,53	1,41	1,65	1,41	1,41
ReliefF	7,57	6,39	4,97	0,93	0,94	1,16	1,64	1,63
TNoN	5,43	5,20	3,99	4,01	2,12	2,12	1,88	1,89
Wilcoxon	4,73	3,31	2,12	0,69	0,94	0,23	1,87	1,64
AROM	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RFE	4,49	1,63	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 5.7: Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de linfoma.

Método	Número de genes	Erro (%)
	(Média/Desvio)	(Média/Desvio)
Completo	4026/0	5,66/8,69
AG-Filtro Corr	13,7/5,21	4,00/8,00 ◊
AG-Filtro Cos	4,30/1,73	19,66/16,00 ▽
CFS	35,30/7,36	4,00/8,00 ◊
Consistência	2,60/0,40	2,00/6,00 ◊
TG	128/0	2,00/6,00 ◊
Golub	32/0	0,00/0,00 ◊
Info	32/0	4,50/9,06 ◊
ReliefF	16/0	5,00/10,00 ◊
TNoN	128/0	7,66/9,43 ◊
Wilcoxon	64/0	6,00/9,16 ◊
AG-SVM	11,10/3,53	10,66/10,90 ◊
AROM	8/0	12,66/14,61 ◊
RFE	16/0	15,50/10,91 ◊

Tabela 5.8: Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de linfoma.

Método	AG-Filtro Corr	AG-Filtro Cos	AG-SVM
AG-Filtro Corr	$\diamond (0)$	$\nabla (-3,18x)$	$\diamond (-1,23x)$
AG-Filtro Cos	$\triangle (+3,18x)$	$\diamond (0)$	$\diamond (+2,58x)$
CFS	$\diamond (-2,57x)$	$\nabla (-8,20x)$	$\diamond (-3,18x)$
Consistência	$\diamond (+5,26x)$	$\nabla (+1,65x)$	$\nabla (+4,26x)$
TG	$\diamond (-9,34x)$	$\nabla (-29,76x)$	$\nabla (-11,53x)$
Golub	$\diamond (+2,33x)$	$\nabla (-7,44x)$	$\nabla (-2,88x)$
Info	$\diamond (+2,33x)$	$\nabla (-7,44x)$	$\diamond (-2,88x)$
ReliefF	$\diamond (-1,15x)$	$\nabla (-3,72x)$	$\nabla (-1,44x)$
TNoN	$\diamond (-9,34x)$	$\nabla (-29,76x)$	$\diamond (-11,53x)$
Wilcoxon	$\diamond (-4,67x)$	$\nabla (-14,88x)$	$\diamond (-5,76x)$
AG-SVM	$\diamond (+1,23x)$	$\diamond (-2,58x)$	$\diamond (0)$
AROM	$\diamond (-1,71x)$	$\diamond (-1,86x)$	$\diamond (+1,38x)$
RFE	$\diamond (-1,15x)$	$\diamond (-3,72x)$	$\diamond (-1,44x)$

Tabela 5.9: Comparação entre os métodos propostos. Base de linfoma.

e apresenta muitos exemplos difíceis de classificar.

Este problema foi estudado por Kadota et al. (2003). Eles desenvolveram um método que tenta identificar exemplos que foram determinados erroneamente como pertencentes a uma classe (estes exemplos são conhecidos como *outliers*). A aplicação de seu método na base de cólon mostrou que a heterogeneidade e a contaminação de amostras pode resultar em diversos *outliers*. Eles identificaram 7 casos. Assim, acredita-se que estes são os responsáveis pela alta complexidade de classificação desta base.

Observando a Tabela 5.11, percebe-se que a maioria dos métodos de SC conseguiu reduzir significativamente a dimensionalidade do domínio sem perda de desempenho de classificação. Apenas o CFS e o TG apresentaram resultados inferiores. Comparando as abordagens baseadas em AGs e as demais, percebe-se que não há diferença de desempenho estatisticamente significativa entre os métodos. Tanto o AG-Filtro Corr quanto o AG-Filtro Cos selecionaram menos genes que a maioria das outras técnicas. Este último selecionou, em média, 3,60 genes e é o método recomendado para a base de cólon.

Método	Número de genes							
	2	4	8	16	32	64	128	256
TG	17,19	17,37	12,53	11,81	12,89	12,90	14,51	18,26
Golub	12,90	13,61	14,87	10,93	11,64	13,08	11,47	16,85
Info	15,76	13,96	11,81	12,35	11,46	13,25	13,43	14,15
ReliefF	15,41	15,41	14,68	14,69	12,72	14,86	13,96	15,94
TNoN	14,15	14,33	14,33	12,89	12,53	13,07	13,07	13,07
Wilcoxon	14,87	13,26	12,36	11,10	11,28	11,64	11,10	13,61
AROM	-	-	-	0,72	1,61	0,36	1,43	2,15
RFE	13,61	7,51	3,04	1,44	0,53	0,72	1,25	1,61

Tabela 5.10: Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de cólon.

Método	Número de genes	Erro (%)
	(Média/Desvio)	(Média/Desvio)
Completo	2000	12.61/11.71
AG-Filtro Corr	9,20/0,40	15,71/15,32 ◊
AG-Filtro Cos	3,60/1,62	14,28/15,20 ◊
CFS	21,80/5,96	19,04/13,76 ▽
Consistência	4,3/0,78	14,28/13,25 ◊
TG	16/0	25,23/20,92 ▽
Golub	16/0	14,28/15,20 ◊
Info	32/0	15,95/14,44 ◊
ReliefF	32/0	12,61/13,88 ◊
TNoN	32/0	14,04/14,69 ◊
Wilcoxon	16/0	15,4762/16,60 ◊
AG-SVM	17,90/3,80	15,71/13,93 ◊
AROM	64/0	17,38/17,57 ▽
RFE	32/0	19,28/24,39 ◊

Tabela 5.11: Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de cólon.

Método	AG-Filtro Corr	AG-Filtro Cos	AG-SVM
AG-Filtro Corr	$\diamond (0)$	$\diamond (+2,55x)$	$\diamond (+1,94x)$
AG-Filtro Cos	$\diamond (+2,55x)$	$\diamond (0)$	$\diamond (+4,97x)$
CFS	$\diamond (-2,36x)$	$\diamond (-6,05x)$	$\diamond (-1,21x)$
Consistência	$\diamond (+2,13x)$	$\diamond (-1,19x)$	$\diamond (+4,16x)$
TG	$\diamond (-1,73x)$	$\triangle (-4,44x)$	$\triangle (+1,11x)$
Golub	$\diamond (-1,73x)$	$\diamond (-4,44x)$	$\diamond (+1,11x)$
Info	$\diamond (-3,47x)$	$\diamond (-8,88x)$	$\diamond (-1,78x)$
ReliefF	$\diamond (-3,47x)$	$\diamond (-8,88x)$	$\diamond (-1,78x)$
TNoN	$\diamond (-3,47x)$	$\diamond (-8,88x)$	$\diamond (-1,78x)$
Wilcoxon	$\diamond (-1,73x)$	$\diamond (-4,44x)$	$\diamond (+1,11x)$
AG-SVM	$\diamond (-1,94x)$	$\diamond (-4,97x)$	$\diamond (0)$
AROM	$\diamond (-6,95)$	$\diamond (-17,77x)$	$\diamond (-3,57x)$
RFE	$\diamond (-3,47x)$	$\diamond (-8,88x)$	$\diamond (-1,78x)$

Tabela 5.12: Comparação entre os métodos propostos. Base de cólon.

5.4.4 Glioma

A Tabela 5.13 compara os erros de LOOCV de subconjuntos de genes de diferentes dimensionalidades na base de glioma. Percebe-se que os menores erros são obtidos utilizando-se 8, 16 ou 32 genes. É interessante notar a grande diferença entre os erros obtidos pelos filtros e pelos *wrappers*. Isto ocorre pelo fato de os erros de LOOCV serem calculados nas mesmas partições de treinamento utilizadas para selecionar os genes. Como nos *wrappers* o classificador é ativamente utilizado para selecionar os genes, é natural que os erros obtidos com o mesmo classificador empregado anteriormente sejam pequenos. Esta mesma situação ocorreu na base de cólon.

Observando-se a Tabela 5.14, percebe-se que utilizando as partições de teste, os *wrappers* não apresentaram desempenho diferente dos filtros, em média. Todas as técnicas foram capazes de selecionar subconjuntos compactos de genes sem interferir significativamente no desempenho das SVMs. Embora a maioria das técnicas tenha obtido desempenho de classificação semelhante, nota-se que a taxa de erro pode ser considerada alta. Isto ocorre pois a base é formada de amostras bastante heterogêneas, compostas de casos de glioma clássicos e não-clássicos Nutt et al. (2003). Estes últimos são difíceis de classificar

Método	Número de genes							
	2	4	8	16	32	64	128	256
TG	17,99	13,76	13,99	11,10	10,65	11,97	13,76	15,51
Golub	19,31	13,32	11,99	11,99	13,54	12,87	12,42	12,88
Info	17,99	16,86	14,89	12,88	12,21	14,20	14,66	16,87
ReliefF	18,91	15,09	12,20	12,66	13,53	13,09	13,54	15,30
TNoN	15,52	15,10	13,99	13,76	15,32	15,33	16,67	15,97
Wilcoxon	16,44	15,10	13,12	14,00	14,22	14,64	16,85	17,08
AROM	-	-	-	0,22	0,44	0,67	0,44	0,44
RFE	15,31	9,09	2,65	0,00	0,66	0,00	0,22	0,44

Tabela 5.13: Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base do glioma.

até mesmo por médicos experientes.

A Tabela 5.15 apresenta uma comparação entre as abordagens baseadas em AGs e as demais técnicas. O AG-Filtro Corr apresentou desempenho inferior ao ReliefF e ao AG-SVM. O desempenho do AG-Filtro Cos foi igual ao de todas as técnicas, embora tenha selecionado menos genes na maioria das vezes. O AG-SVM mostrou ter desempenho superior ao de diversas técnicas. Para isso, entretanto, ele necessitou de um maior número de genes em quase todos os casos.

Para esta base, tanto o AG-Filtro Cos quanto o ReliefF poderiam ter sido recomendados, pois o desempenho de ambos não é diferente estatisticamente e eles selecionaram, em média, 7 e 8 genes, respectivamente. Entretanto optou-se por recomendar o ReliefF, dado que o seu erro médio foi de 16,00%, enquanto que o AG-Filtro Cos teve um erro médio de 23,66%. Além disso, o ReliefF foi significativamente superior ao AG-Filtro Corr, CFS, Wilcoxon, AROM e RFE.

5.4.5 Mama

A Tabela 5.16 compara o erro de LOOCV utilizando diferentes técnicas de SC e diversos números de genes. Para esta base de dados, percebe-se que as dimensionalidades dos subconjuntos selecionados variam muito de acordo com a técnica utilizada, indo de apenas 4 até 256 genes. Também para esta base, o AROM não conseguiu convergir quando o número de genes é muito pequeno.

Método	Número de genes (Média/Desvio)	Erro (%) (Média/Desvio)
Completo	4434/0	21,00/17,82
AG-Filtro Corr	9,90/1,30	25,66/18,54 $\diamond$
AG-Filtro Cos	7,00/2,36	23,66/20,06 $\diamond$
CFS	35,60/3,46	27,50/18,33 $\diamond$
Consistência	3,90/0,53	23,66/15,23 $\diamond$
TG	32/0	17,66/14,51 $\diamond$
Golub	8/0	22,16/22,48 $\diamond$
Info	16/0	25,83/19,13 $\diamond$
ReliefF	8/0	16,00/14,41 $\diamond$
TNoN	16/0	26,16/20,24 $\diamond$
Wilcoxon	8/0	28,16/22,39 $\diamond$
AG-SVM	20,20/4,85	17,16/15,16 $\diamond$
AROM	16/0	23,83/19,59 $\diamond$
RFE	16/0	25,83/20,17 $\diamond$

Tabela 5.14: Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de glioma.

Método	AG-Filtro Corr	AG-Filtro Cos	AG-SVM
AG-Filtro Corr	-	$\diamond$ (-01,41)	$\triangle$ (+02,04)
AG-Filtro Cos	$\diamond$ (+01,41)	-	$\diamond$ (+02,88)
CFS	$\diamond$ (-03,59)	$\diamond$ (-05,08)	$\triangle$ (-01,76)
Consistência	$\diamond$ (+02,53)	$\diamond$ (+01,79)	$\triangle$ (+05,17)
TG	$\diamond$ (-03,23)	$\diamond$ (-04,57)	$\diamond$ (-01,58)
Golub	$\diamond$ (+01,23)	$\diamond$ (-01,14)	$\diamond$ (+02,52)
Info	$\diamond$ (-01,61)	$\diamond$ (-02,28)	$\triangle$ (+01,26)
ReliefF	∇ (+01,23)	$\diamond$ (-01,14)	$\diamond$ (+02,52)
TNoN	$\diamond$ (-01,61)	$\diamond$ (-02,28)	$\triangle$ (+01,26)
Wilcoxon	$\diamond$ (+01,23)	$\diamond$ (-01,14)	$\diamond$ (+02,52)
AG-SVM	∇ (-02,04)	$\diamond$ (-02,88)	-
AROM	$\diamond$ (-01,61)	$\diamond$ (-02,28)	$\diamond$ (+01,26)
RFE	$\diamond$ (-01,61)	$\diamond$ (-02,28)	$\diamond$ (+01,26)

Tabela 5.15: Comparação entre os métodos propostos. Base de glioma.

Método	Número de genes							
	2	4	8	16	32	64	128	256
TC	3,02	1,77	4,02	4,05	3,01	3,27	2,01	0,75
Golub	5,78	3,01	1,25	3,03	1,76	2,02	0,76	0,76
Info	2,51	2,02	5,53	3,77	4,02	3,27	1,51	1,76
ReliefF	6,59	5,56	3,03	3,52	2,77	3,27	2,53	2,01
TNoN	2,76	1,52	3,77	3,55	5,28	3,77	3,03	2,28
Wilcoxon	3,27	1,27	2,52	3,28	3,28	4,53	1,52	1,78
AROM	-	-	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RFE	5,30	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 5.16: Erro estimado (%) utilizando diferentes números de genes. Base de mama.

A Tabela 5.17 exibe os erros de teste aplicando-se as várias técnicas. Todas elas apresentam desempenho estatisticamente igual em relação à classificação realizada utilizando o conjunto completo de genes, indicando a eficácia da SC na base. Neste experimento, 2 técnicas de SC sobressaíram: o CFS e a Consistência. Ambas obtiveram um erro médio de 1,66%, selecionado apenas 1 gene. Assim, tanto um quanto outro podem ser recomendados. Os dois apresentaram desempenho estatisticamente superior ao Golub, ao TNoN, ao RFE e ao AG-Filter Cos. O AG-Filtro Cos e o AG-SVM não apresentaram diferença significativa em relação a nenhuma técnica, como pode ser visto na Tabela 5.18.

5.5 Genes Selecionados

Nesta Seção, os genes selecionados utilizando as técnicas recomendadas para cada base de dados são mostrados. A seleção não é mais baseada nas partições de treinamento da validação cruzada e sim nas bases completas. Desta forma, para as técnicas que determinam automaticamente o número de genes a ser selecionados, pode haver certas discrepâncias em relação aos números exibidos nas tabelas anteriores e os números exibidos nesta Seção. No caso das técnicas que selecionam um número definido de genes, utiliza-se os melhores valores conforme visto na Seção 5.4.

Para a base de leucemia, a técnica de SC utilizada é o AG-Filtro Cos. Os genes selecionados são apresentados na Tabela 5.19, com as identificações e descrições conforme disponibilizados pelo provedor original da base de dados. Ao todo, 7 genes foram selecio-

Método	Número de genes	Erro (%)
	(Média/Desvio)	(Média/Desvio)
Completo	4969/0	10,00/16,58
AG-Filtro Corr	9,20/0,40	6,66/10,40 $\diamond$
AG-Filtro Cos	3,80/0,97	9,16/11,45 $\diamond$
CFS	1/0	1,66/5,00 $\diamond$
Consistência	1/0	1,66/5,00 $\diamond$
TG	256/0	6,66/10,40 $\diamond$
Golub	128/0	9,16/11,45 $\diamond$
Info	128/0	6,66/10,40 $\diamond$
ReliefF	256/0	4,16/8,53 $\diamond$
TNoN	4/0	9,16/11,45 $\diamond$
Wilcoxon	4/0	6,66/10,40 $\diamond$
AG-SVM	26,5/7,29	6,66/10,40 $\diamond$
AROM	16/0	4,16/9,00 $\diamond$
RFE	8/0	10,83/14,19 $\diamond$

Tabela 5.17: Percentuais de erro de teste para cada técnica. Base de mama.

Método	AG-Filtro Corr	AG-Filtro Cos	AG-SVM
AG-Filtro Corr	$\diamond$ (0)	$\diamond$ (-2,42x)	$\diamond$ (+2,88x)
AG-Filtro Cos	$\diamond$ (+2,42x)	$\diamond$ (0)	$\diamond$ (+6,97x)
CFS	$\diamond$ (+9,20x)	∇ (+3,80x)	$\diamond$ (+26,50x)
Consistência	$\diamond$ (+9,20x)	∇ (+3,80x)	$\diamond$ (+26,50x)
TG	$\diamond$ (+27,82x)	$\diamond$ (-67,36x)	$\diamond$ (-9,66x)
Golub	$\diamond$ (-13,91x)	$\diamond$ (-33,68x)	$\diamond$ (-4,83x)
Info	$\diamond$ (-13,91x)	$\diamond$ (-33,68x)	$\diamond$ (-4,83x)
ReliefF	$\diamond$ (-27,82x)	$\diamond$ (-67,36x)	$\diamond$ (-9,66x)
TNoN	$\diamond$ (+2,30x)	$\diamond$ (-1,05x)	$\diamond$ (+6,62x)
Wilcoxon	$\diamond$ (+2,30x)	$\diamond$ (-1,05x)	$\diamond$ (+6,62x)
AG-SVM	$\diamond$ (-2,88x)	$\diamond$ (-6,97x)	$\diamond$ (0)
AROM	$\diamond$ (-1,73x)	$\diamond$ (-4,21x)	$\diamond$ (+1,65x)
RFE	$\diamond$ (+1,15x)	$\diamond$ (-2,10x)	$\diamond$ (+3,31x)

Tabela 5.18: Comparação entre os métodos propostos. Base de mama.

nados.

Identificação	Descrição dos genes
D88270.at	GB DEF = (lambda) DNA for immunoglobulin light chain
M21624.at	TCRD T cell receptor, delta
M27891.at	CST3 Cystatin C (amyloid angiopathy and cerebral hemorrhage)
M84526.at	DF D component of complement (adipsin)
X82240.mna1.at	TCL1 gene (T cell leukemia) extracted from H.sapiens mRNA for Tcell leukemia/lymphoma 1
U89922.s.at	LTB Lymphotoxin-beta
X00437.s.at	TCRB T-cell receptor, beta cluster

Tabela 5.19: Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de leucemia.

Para a base de linfoma, a técnica de SC utilizada é a Consistência. Os genes selecionados são apresentados na Tabela 5.20, com as identificações e descrições conforme disponibilizados pelo provedor original da base de dados. Ao todo, 3 genes foram selecionados.

Identificação	Descrição dos genes
GENE4009X	"(Unknown UG Hs.123254 ESTs; Clone=1351693)"
GENE2544X	"(XE7-B lymphocyte surface protein; Clone=1338106)"
GENE3327X	"(Unknown UG Hs.169565 ESTs, Moderately similar to !!! ALU SUBFAMILY SB WARNING ENTRY !!! [H.sapiens]; Clone=825217)"

Tabela 5.20: Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de linfoma.

Para a base de cólon, a técnica de SC utilizada é a Consistência. Os genes selecionados são apresentados na Tabela 5.21, com as identificações e descrições conforme disponibilizados pelo provedor original da base de dados. Ao todo, 13 genes foram selecionados.

Identificação	Descrição dos genes
Hsa.8147	Human desmin gene, complete cds.
Hsa.831	"MITOCHONDRIAL MATRIX PROTEIN P1 PRECURSOR (HUMAN);:"
Hsa.3306	Human gene for heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) core protein A1.
Hsa.549	"P03001 TRANSCRIPTION FACTOR IIIA.:"
Hsa.8214	PUTATIVE SERINE/THREONINE-PROTEIN KINASE B0464.5 IN CHROMOSOME III (Caenorhabditis elegans)
Hsa.8007	"GLUCOSE TRANSPORTER TYPE 3, BRAIN (HUMAN);contains Ala repetitive element.:"
Hsa.3016	S-100P PROTEIN (HUMAN).
Hsa.1832	"MYOSIN REGULATORY LIGHT CHAIN 2, SMOOTH MUSCLE ISOFORM (HUMAN);contains element TARI repetitive element.:"
Hsa.108	Human mRNA for osteoblast specific factor 2 (OSF-2p1).
Hsa.33268	C4 DICARBOXYLATE TRANSPORT SENSOR PROTEIN DCTB (Rhizobium leguminosarum)
Hsa.12442	Human RNA polymerase II subunit (hsRPB10) mRNA, complete cds.
Hsa.8192	INTERFERON REGULATORY FACTOR 2 (Homo sapiens)
Hsa.41098	Human Mullerian inhibiting substance gene, complete cds.

Tabela 5.21: Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de cólon.

Para a base de glioma, a técnica de SC utilizada é a ReliefF. Os genes selecionados são apresentados na Tabela 5.22, com as identificações e descrições conforme disponibilizados pelo provedor original da base de dados. Ao todo, 8 genes foram selecionados.

Para a base de mama, as técnica de SC utilizadas são a Consistência e o CFS. Os genes selecionados são apresentados na Tabela 5.23, com as identificações e descrições conforme

Identificação	Descrição dos genes
36618.g_at	Cluster Incl. X77956:H.sapiens Id1 mRNA /cds=(35,499) /gb=X77956 /gi=457784 /ug=Hs.75424 /len=916
630.at	/FEATURE expanded cds /DEFINITION=HUMDDIDA Homo sapiens deoxycytidylate deaminase gene, complete cds
40367.at	Cluster Incl. M22489:Human bone morphogenetic protein 2A (BMP 2A) mRNA /cds=(323,1513) /gb=M22489 /gi=179501 /ug=Hs.73853 /len=1547
41016.at	Cluster Incl. AB007979:Homo sapiens mRNA, chromosome 1 specific transcript KIAA0510 /cds UNKNOWN /gb=AB007979 /gi=3413934 /ug=Hs.92660 /len 5596
39691.at	Cluster Incl. AB007960:chromosome 1 specific transcript KIAA0491 /cds UNKNOWN /gb=AB007960 /gi=3413934 /ug=Hs.136309 /len=5717
36617.at	Cluster Incl. X77956:H.sapiens Id1 mRNA /cds=(35,499) /gb=X77956 /gi=457784 /ug=Hs.75424 /len=916
1113.at	/FEATURE /DEFINITION=HUMBMP2A Human bone morphogenetic protein 2A (BMP-2A) mRNA
35163.at	Cluster Incl. AB028964:Homo sapiens mRNA for KIAA1041 protein, complete cds /cds=(312,2180) /gb=AB028964 /gi=5689418 /ug=Hs.26023 /len=5341

Tabela 5.22: Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de glioma.

disponibilizados pelo provedor original da base de dados. Ao todo, um único gene foi selecionado por ambas as técnicas.

Identificação	Descrição dos genes
X03635.at	dLX03635 5885-6402. Human mRNA for oestrogen receptor

Tabela 5.23: Identificação e descrição dos genes selecionados. Base de mama.

5.6 Considerações finais

Neste Capítulo, os experimentos realizados durante este trabalho foram apresentados. Comparou-se diversas técnicas de SC aplicadas a bases reais de expressão gênica e algumas conclusões, relacionadas com os objetivos enumerados na Seção 5.2.4, puderam ser tecidas:

1. As técnicas de SC podem ser aplicadas eficazmente aos dados de *microarrays*. As taxas de redução obtidas foram muito boas, fazendo com que em todos os domínios testados o número de genes considerados passasse de alguns milhares para poucas dezenas ou mesmo unidades. Além disso, na maioria dos casos, os conjuntos compactos de genes não produziram diferença significativa no desempenho das SVMs, quando comparados ao conjunto completo de genes.
2. As abordagens desenvolvidas baseadas em AGs apresentaram bons desempenhos na classificação pelas SVMs. Os filtros AG-Filtro Corr e AG-Filtro Cos foram alternando o bom desempenho nas bases testadas. Em todas elas, ao menos uma das versões teve desempenho estatisticamente igual às demais técnicas. Em 2 situações, o AG-Filtro Cos foi o método recomendado. O AG-SVM mostrou ter o melhor de-

sempenho geral entre os *wrappers* utilizados, tanto em redução de dimensionalidade do problema quanto na classificação pelas SVMs.

3. Avaliando os experimentos como um todo, pode-se concluir que os filtros apresentaram benefícios em relação aos *wrappers*. Geralmente, eles selecionaram menor número de genes e obtiveram desempenho médio de classificação superior. Isto é corroborado pelo fato de que todas as técnicas recomendadas são filtros.

Destacou-se também os genes selecionados pelas melhores técnicas em cada base. Eles são pouco o suficiente para serem analisados eficientemente em experiências de bancada. Assim, espera-se que as técnicas de SC possam ser úteis para médicos e biólogos envolvidos no tratamento de doenças graves.

Uma comparação direta de custo computacional das técnicas não é possível. Primeiro porque os experimentos, dependendo da técnica empregada, foram executadas em máquinas com configurações diferentes. Segundo, os programas utilizados estão em linguagens de programação das mais variadas, como C/C++, Matlab e Java, dificultando as análises. Mas, como regra geral, afirma-se que todos os filtros foram executados com grande eficiência computacional. Seus tempos de execução variam de alguns segundos a poucos minutos, mesmo o AG-Filtro Corr e o AG-Filtro Cos. Os métodos que realizam um ranking das características foram os mais rápidos, como o esperado. Os *wrappers* envolvem naturalmente mais custos de processamento, levam muitos minutos a algumas horas para serem executados. O AG-SVM mostrou ser mais custoso. Apesar de tudo, quando analisando dados de expressão gênica, o custo computacional não deve ser encarado como a maior prioridade. Basta lembrar que eles representam uma fração muito pequena dos custos envolvidos em projetos maiores, que vão desde a difícil coleta dos dados biológicos à custosa e demorada condução dos experimentos de *microarrays*.

Conclusão e Trabalhos Futuros

No presente trabalho, foi apresentada uma comparação entre diversos métodos de SC para SVMs aplicadas à análise de bases de dados de expressão gênica. Foram considerados 8 filtros e 2 *wrappers* para seleccionar genes em experimentos de *microarrays*. Os principais objetivos do estudo foram observar se SVMs poderia ter algum benefício em trabalhar com um conjunto compacto de genes neste domínio e indicar quais as melhores técnicas para as 5 bases testadas, tanto em termos de desempenho do classificador quanto em termos de redução de dimensionalidade.

No decorrer do projeto, 2 novas técnicas baseadas em AGs foram desenvolvidas. A primeira pode ser enquadrada na abordagem de filtros. Ela baseia-se nas características intrínsecas dos dados para seleccionar um subconjunto de genes que melhor represente o domínio. A outra é um *wrapper* para SVMs. Ela utiliza algumas propriedades e resultados teóricos do classificador para seleccionar os genes que, explicitamente, mais influenciam na classificação.

Os resultados comparativos entre todas as técnicas mostraram 3 pontos básicos:

- AGs são muito eficazes no problema da seleção de genes. Em todas as bases testadas, ou o AG-Filtro (em uma de suas versões) ou o AG-SVM, apresentaram desempenho de classificação não estatisticamente inferior às demais técnicas e com um número bastante reduzido de genes. De fato, em 2 bases, o AG-Filtro Cos foi a técnica recomendada. A técnica AG-SVM foi o melhor entre os *wrappers* testados.
- Os resultados mostram que os filtros são mais adequados que os *wrappers* para realizar SC em domínios de expressão gênica, onde o número de exemplos de dados chega a ser centenas de vezes menor que o número de genes. Nestas situações, os *wrappers* parecem confrontar-se com o problema do *overfitting*.
- As taxas de redução de dimensionalidade obtidas são altamente positivas. Em todos os casos testados, apenas uma pequena fração de genes foi seleccionada, em comparação com os milhares disponíveis. Trabalhar com poucos genes é vantajoso nas

experiências de bancada efetuadas por médico e biólogos. Assim, os cientistas podem focar esforços e recursos nos genes que mais provavelmente estão relacionado com o fenômeno em estudo.

6.1 Contribuições

Este trabalho resultou nas seguintes contribuições principais:

- Uma comparação de diversas técnicas de SC aplicados a bases de dados reais de expressão gênica. Com isso, foi possível determinar a melhor técnica para cada bases e apresentar os genes selecionados para cada uma. Estes genes podem, posteriormente, ser estudados mais profundamente.
- O desenvolvimento de 2 novas abordagens para selecionar genes. Elas são baseadas em AGs e mostraram ser competitivas com os métodos comparados. Tanto o AG-Filtro quanto o AG-SVM resultaram em publicação de trabalhos científicos (de souza e de Carvalho, 2004b) (de Souza et al., 2004).
- O fortalecimento do recém-criado Grupo de Computação Bioinspirada do ICMC-USP. O trabalho encontra-se perfeitamente alinhado com a linha de pesquisa do grupo e ajuda na missão de desenvolver soluções inspiradas na natureza para resolver problemas de Bioinformática.

6.2 Trabalhos Futuros

Dentre os trabalhos que podem ser desenvolvidos a partir deste, é possível citar:

- Este trabalho restringiu-se às bases de dados provenientes de *microarrays*, por estas serem mais comuns e estarem disponíveis publicamente na Internet. Entretanto, há várias outras tecnologias que têm sido utilizadas para gerar dados genômicos em larga escala, como o SAGE e o MPSS. Assim, espera-se poder aplicar as técnicas aqui testadas nestes outros tipos de dados.
- Uma validação biológica crítica dos genes selecionados poderia enriquecer o estudo. Desta forma, é intenção do autor trabalhar em conjunto com uma equipe especializada para verificar a relevância dos subconjuntos encontrados.

- As técnicas propostas são baseados em AGs simples. Recentemente, versões multiobjetivas têm sido utilizadas em problema de SC (Jr. et al., 2004). No contexto de dados de expressão gênica e SVMs o autor desconhece algum trabalho. Então, investigar estas abordagens é de interesse do autor.
- Neste trabalho, apenas bases de dados contendo 2 classes foram consideradas. Entretanto, muitos problemas reais são multiclasse e apresentam toda uma nova série de dificuldades. Assim, pretende-se explorar este tipo de problemas. Uma primeira tentativa já foi feita utilizando AGs e SVMs (de souza e de Carvalho, 2004a).
- O sucesso dos AGs na seleção de genes instiga a pesquisa dessa aplicação utilizando-se outros algoritmos bio-inspirados, como Colônias de Formigas (Gambardella et al., 2002), Inteligência por Enxame (de Oliveira et al., 2004), etc. O autor tem interesse em investigar essas abordagens em oportunidade próxima.

Referências Bibliográficas

- Alon, U., Barkai, N., Notterman, D. A., Gish, K., Ybarra, S., Mack, D., and Levine, A. J. (1999). Broad patterns of gene expression revealed by clustering analysis of tumor e normal colon tissues probed by oligonucleotide arrays. In *Proc Natl Acad Sci USA*, volume 96, pages 6745–6750. National Academy of Sciences.
- Ambroise, C. e McLachlan, G. J. (2002). Selection bias in gene extraction on the basis of microarray gene-expression data. *PNAS USA*, 99(10):6562–6566.
- Argani, P., Iacobuzio-Donahue, C., Ryu, B., Rosty, C., Goggins, M., Wilentz, R. E., Murugesan, S. R., Leach, S. D., Jaffee, E., Yeo, C. J., Cameron, J. L., Kern, S. E., e Hruban, R. H. (2001). Mesothelin is overexpressed in the vast majority of ductal adenocarcinomas of the pancreas. *Clinical Cancer Research*, 7:3862–3868.
- Ben-Dor, A., Bruhn, L., Friedman, N., Nachman, I., Schummer, M., e Yakhini, Z. (2000a). Tissue classification with gene expression profiles. In *RECOMB*, pages 54–64.
- Ben-Dor, A., Friedman, N., e Yakhini, Z. (2000b). Scoring genes for relevance. Relatório Técnico 2000-13, Agilent Laboratories, EUA.
- Ben-Dor, A., Friedman, N., e Yakhini, Z. (2002). Overabundance analysis e class discovery in gene. Relatório Técnico 2002-4, Agilent Laboratories, EUA.
- Bishop, C. M. (1996). *Neural networks for pattern recognition*. Oxford University Press.
- Blum, A. e Langley, P. (1997). Selection of relevant features e examples in machine learning. *Artificial Intelligence*, 97(1-2):245–271.
- Breiman, L., Friedman, J., Olshen, R., e Stone, C. (1984). *Classification e Regression Trees*. Wadsworth International, California.

- Brenner, S., Johnson, M., Bridgham, J., Golda, G., Lloyd, D. H., Johnson, D., Luo, S., McCurdy, S., Foy, M., Ewan, M., e Roth, R. (2000a). Genes expressed in the drosophila head reveal a role for fat cells in sex-specific physiology. *Nature Technology*, 18:630–634. Errata em Nat Biotechnol 2000 Jun;18:630-634.
- Brenner, S., Williams, S. R., Vermaas, E. H., Storck, T., Moon, K., McCollum, C., Mao, J.-L., Luo, S., Kirchner, J. J., Eletr, S., DuBridge, R. B., Burcham, T., e Albrecht, G. (2000b). In vitro cloning of complex mixtures of dna on microbeads: Physical separation of differentially expressed cdnas. In *Proc Natl Acad Sci USA*, volume 97, pages 1665–1670. National Academy of Sciences.
- Brown, M. P. S., Grundy, W. N., Lin, D., Cristianini, N., Sugnet, C., Jr., M. A., e Haussler, D. (2000). Support vector machine classification of microarray gene expression data. In *Proc Natl Acad Sci USA*, volume 97, pages 262–267. National Academy of Sciences.
- Burges, C. J. C. (1998). A tutorial on support vector machines for pattern recognition. *Data Min. Knowl. Discov.*, 2(2):121–167.
- Cai, J., Dayanik, A., Yu, H., Hasan, N., Terauchi, T., e Grundy, W. N. (2000). Classification of cancer tissue types by support vector machines using microarray gene expression data. In *The Eighth International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB)*, California, USA. Poster.
- Caldwell, M. C., Hough, C., Fürer, S., Lincham, W. M., Morin, P. J., and Gorospe, M. (2002). Serial analysis of gene expression in renal carcinoma cells reveals vhl-dependent sensitivity to tnf cytotoxicity. *Oncogene*, 21:929–936.
- Casey, D. K. (2001). Genomics e its impact on medicine e society: A 2001 primer. Technical report, U.S. Department of Energy. Human Genome Program.
- Casley, D. (1992). Primer on molecular genetics. Technical Report, U.S. Departmente of Energy, Office of Energy Research, Office of Health e Environmental Research.
- Chang, C.-C. e Lin, C.-J. (2001). *LIBSVM: a library for support vector machines*. Software available at <http://www.csie.ntu.edu.tw/~cjlin/libsvm>.

- Choi, S. (2004). *DNA Chips e Microarray Analysis: An Overview*, chapter Handbook of fungal biotechnology, pages 173 – 179. Marcel Dekker, Inc., New York, second edition edition.
- Collins, F. S., Green, E. D., Guttmacher, A. E., e Guyer, M. S. (2003). A vision for the future of genomics research. *Nature*, 422:835 – 847.
- Congdon, C. B. (1995). *A comparison of genetic algorithm e other machine learning systems on a complex classification task from common disease research*. Phd thesis, University of Michigan.
- Constans, A. (2002). A new approach to gene expression analysis. *The Scientist*, 16:44.
- Cover, T. M. e Thomas, J. A. (1991). *Elements of Information Theory*. John Wiley e Sons, Nova York.
- Cristianini, N. e Shawe-Taylor, J. (2000a). *An Introduction to Support Vector Machines (and other kernel-based learning methods)*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1 edition.
- Cristianini, N. e Shawe-Taylor, J. (2000b). *An Introduction to Support Vector Machines (and other kernel-based learning methods)*. Cambridge University Press.
- de Oliveira, D., Jr., P. R. F., Bazzan, A. L. C., e Klügl, F. (2004). A swarm-based approach for selection of signal plans in urban scenarios. In *ANTS Workshop*, pages 416–417.
- de souza, B. F. e de Carvalho, A. (2004a). Gene selection based on multi-class svms e genetic algorithms. In *Proceedings of the WOB 20004*, pages 1–8, Brasila.
- de souza, B. F. e de Carvalho, A. (2004b). Gene selection using genetic algorithms. In *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological e Medical Data Analysis*, Lecture Notes in Computer Science, pages 1–12, Valencia, Espanha. Springer-Verlag.
- de Souza, B. F., de Carvalho, A., e Cancino, W. (2004). Gene subset selection using genetic algorithm e svms. In *Proceedings of SBRN 2004*. IEEE. To be published.
- Deb, K. e Kalyanmoy, D. (2001). *Multi-Objective Optimization Using Evolutionary Algorithms*. John Wiley & Sons, Inc.

- Dietterich, T. G. (1998). Approximate statistical tests for comparing supervised classification learning algorithms. *Neural Computation*, 10(7):1895-1924.
- Ding, C. e Dubchak, I. (2001). Multi-class protein fold recognition using support vector machines e neural networks. *Bioinformatics*, 17:349-358.
- Dragomir, A., Mavroudi, S., e Bezerianos, A. (2004). Som-based class discovery exploring the ica-reduced features of microarray expression profiles. *Comparative e Functional Genomics*, 5(8):596-616.
- Dubitzky, W., Granzow, M., e Berrar, D. (2001). Comparing symbolic e subsymbolic machine learning approaches to classification of cancer e gene identification. In Lin, S. e Johnson, K., editors, *Methods of Microarray Data Analysis: Papers from CAMDA'00*. Kluwer Academic Publishers.
- Duda, R. O., Hart, P. E., e Stork, D. G. (2000). *Pattern Classification (2ª Edição)*. Wiley-Interscience.
- Dudoit, S., Fridlyand, J., e Speed, T. P. (2002). Comparison of discrimination methods for the classification of tumors using gene expression data. *Journal of the American Statistical Association*, 97(457):77-87.
- Duggan, D. J., Bittner, M., Chen, Y., Meltzer, P., e Trent, J. (1999). Expression profiling using cDNA microarrays. *Nature*, 21:10-14.
- Eisen, M. B., Spellman, P. T., Brown, P. O., e Botstein, D. (1998). Cluster analysis e display of genome-wide expression patterns. In *Proc Natl Acad Sci USA*, volume 95, pages 14863-14868. National Academy of Sciences.
- Emmanouilidis, C., Hunter, A., e MacIntyre, J. (2000). A multiobjective evolutionary setting for feature selection e a commonality-based crossover operator. In *Proceedings of the Congress on Evolutionary Computation 00*, pages 309-316, New Jersey. IEEE Press.
- Ermolacva, O., Rastogi, M., Pruitt, K. D., Schuler, G. D., Bittner, M. L., Chen, Y., Simon, R., Meltzer, P., Trent, J. M., e Boguski, M. S. (1998). Data management e analysis for gene expression arrays. *Nature Genetics*, 20:19-23.

- et al, A. A. A. (2000). Distinct types of diffuse large b-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*, 403:503–511.
- et al, K. D. (2002). Evaluation of simple performance measures for tuning svm hyperparameters. *Neurocomputing*, 51:41–59.
- Filho, I. G. C. (2003). Comparative analysis of clustering methods for gene expression data. Dissertação de mestrado, Centro de Informática, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Friedman, N., Linial, M., e Nachman, I. (2000). Using bayesian network to analyze expression data. In *Proceedings of the Forth Annual Conference on Research in Computational Molecular Biology RECOMB 500*, pages 127–135. ACM Press.
- Fujii, S. e Amrein, H. (2002). Genes expressed in the drosophila head reveal a role for fat cells in sex-specific physiology. *Clinical Cancer Research*, 21:5353–5363.
- Gambardella, L. M., Dorigo, M., Middendorf, M., e Stützle, T. (2002). Guest editorial: special section on ant colony optimization. *IEEE Trans. Evolutionary Computation*, 6(4):317–319.
- Gibson, G. e Muse, S. V. (2004). *A Primer of Genome Science*, chapter Gene Expression e the Transcriptome, pages 123 – 181. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, second edition edition.
- Goldberg, D. E. (1989). *Genetic Algorithms in Search, Optimization e Machine Learning*. Addison-Wesley Longman Publishing, Boston, MA.
- Golub, T. R., Slonim, D. K., Tamayo, P., e Huard, C. (1999a). Molecular classification of cancer: Class discovery e class prediction by gene expression monitoring. *Science*, 286.
- Golub, T. R., Slonim, D. K., Tamayo, P., Huard, C., Gaasenbeek, M., Mesirov, J. P., Coller, H., Loh, M. L., Downing, J. R., Caligiuri, M. A., Bloomfield, C. D., e Lander, E. S. (1999b). Molecular classification of cancer: Class discovery e class prediction by gene expression monitoring. *Science*, 286:531–537.
- Guyon, I. e Elisseeff, A. (2003). An introduction to variable e feature selection. *J. Mach. Learn. Res.*, 3:1157–1182.

- Guyon, I., Weston, J., Barnhill, S., e Vapnik, V. (2002). Gene selection for cancer classification using support vector machines. *Machine Learning*, 46 (1-3):389-422.
- Hall, M. e Holmes, G. (2003). Benchmarking attribute selection techniques for discrete class data mining. *IEEE Trans. Knowl. Data Eng.*, 15(6):1437-1447.
- Hall, M. A. (1999). *Correlation-based feature selection for machine learning*. Tese de doutorado, Departament of Computer Science, University of Waikato, Hamilton, New Zealand.
- Harrington, C. A., Rosenow, C., e Retief, J. (2000). Monitoring gene expression using dna microarrays. *Curr. Opin. Microbiol.*, 3:285-291.
- Haykin, S. (1998). *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*. Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, NJ, USA.
- Hucka, M. e Szallasi, Z. (2003). Introduction to computational approaches in systems biology. Online.
- Hunter, L. (1993). Molecular biology for computer scientists. In Hunter, L., editor, *Artificial Intelligence e Molecular Biology*, pages 1-46. Menlo Park, CA. AAAI Press.
- Hwang, K.-B., Cho, D.-Y., Park, S.-W., Kim, S.-D., e Zhang, B.-T. (2002). Applying machine learning techniques to analysis of gene expression data: cancer diagnosis. In Lin, S. e Johnson, K., editors, *Methods of Microarray Data Analysis*, pages 167-182, Boston, USA. Kluwer Academic Publishers.
- Inza, I., Larranaga, P., Blanco, R., e Cerrolaza, A. J. (2004). Filter versus wrapper gene selection approaches in dna microarray domains. *Artificial Intelligence in Medicine*, 31:91-103.
- Jaeger, J., Seugupta, R., e Ruzzo, W. L. (2003). Improved gene selection for classification of microarrays. In *Proceedings of the Pac Symp Biocomput. 2003*, pages 53-64. Eletronic version available at <http://helix-web.stanford.edu/psb03/>.
- Jain, A. e Chandrasekaran, B. (1982). Dimensionality e sample size considerations. *Pattern Recognition Practice*, 2:835-855.

- Jain, A. & Dubes, R. (1988). *Algorithms for Clustering Data*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.
- Jain, A. K., Duin, R. P. W., & Mao, J. (2000). Statistical pattern recognition: A review. *IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence*, 22(1):4–37.
- Joachims, T. (1998). Making large-scale support vector machine learning practical. In B. Schölkopf, C. Burges, A. S., editor. *Advances in Kernel Methods: Support Vector Machines*. MIT Press, Cambridge, MA.
- Joachims, T. (2000). Estimating the generalization performance of a SVM efficiently. In Langley, P., editor, *Proc. of 17th ICML-00*, pages 431–438, Stanford, US. Morgan Kaufmann Publishers, San Francisco, US.
- Joachims, T. (2002). *Learning to Classify Text using Support Vector Machines: Methods, Theory, & Algorithms*. KLUWER INTERNATIONAL SERIES IN ENGINEERING & COMPUTER SCIENCE. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA.
- Joel, W., Bock, R., & Gough, D. A. (2001). Predicting protein-protein interactions from primary structure. *Bioinformatics*, 17:455–460.
- John, G. H., Kohavi, R., & Pfleger, K. (1994). Irrelevant features & the subset selection problem. In *International Conference on Machine Learning*, pages 121–129. Journal version in AIJ, available at <http://citeseer.nj.nec.com/13663.html>.
- Jr., C. S., Pappa, G., Freitas, A., & Kaestner, C. (2004). Automatic text summarization with genetic algorithm-based attribute selection. In Lemaitre, C., Reyes, C., & Gonzales, J., editors, *Advances in Artificial Intelligence (IBERAMIA 2004, Proc. 9th Ibero-American Conference on AI), LNCS*, volume 3315, pages 305–314. Springer-Verlag.
- Kadota, K., Nishimura, S. I., & Bono, H. (2003). Detection of genes with tissue-specific expression patterns using akaike’s information criterion procedure. *Physiol. Genomics*, 12(3):251–259.
- Kim, R. D. & Park, P. J. (2004). Improving identification of differentially expressed genes in microarray studies using information from public databases. *Genome Biol.*, 5(9):R70.

- Kira, K. e Rendell, L. A. (1992). A practical approach to feature selection. In *Proceedings of the International Conference on Machine Learning (ICML92)*, page 249–256, EUA. Morgan Kaufmann.
- Kohavi, R. e John, G. H. (1997). Wrappers for feature subset selection. *Artificial Intelligence*, 97(1-2):273–324.
- Kohavi, R. e Sommerfield, D. (1995). Feature subset selection using the wrapper method: Overfitting and dynamic search space topology. In *Proc. 1st Intl. Conf. on Knowledge Discovery e Data Mining*, pages 166–185, Menlo Park, CA. AAAI Press.
- Koller, D. e Sahami, M. (1996). Toward optimal feature selection. In *International Conference on Machine Learning*, pages 284–292.
- Kononenko, I. (1994). Estimating attributes: Analysis e extensions of RELIEF. In *European Conference on Machine Learning*, pages 171–182.
- Kuramochi, M. e Karypis, G. (2001). Gene classification using expression profiles: A feasibility study. In *BIBE*, pages 191–200.
- Li, L. e et al (2001). Gene assessment e sample classification for gene expression data using a genetic algorithm/k-nearest neighbor. *Method. Combinat. Chem. e High Throughput Screening*, 4:727–739.
- Lin, Y. (2000). the support vector machine.
- Lipshutz, R. J., Fodor, S. P., Gingeras, T. R., e Lockhart, D. J. (1999). High density synthetic oligonucleotide arrays. *Nature Genetics*, 21:20–24.
- Liu, H., Hussain, F., Tan, C., e Dash, M. (2002). Discretization: An enabling technique. *Journal of Data Mining e Knowledge Discovery*, 6(4):393–423.
- Liu, H. e Motoda, H. (1998a). *Feature Selection for Knowledge Discovery e Data Mining*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA, USA.
- Liu, H. e Motoda, H. (1998b). Feature selection for knowledge discovery data mining.
- Liu, H. e Setiono, R. (1996). A probabilistic approach to feature selection - a filter solution. In *International Conference on Machine Learning*, pages 319–327.

- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, L., Matsudaira, P., Baltimore, D., e Darnell, J. (1999). *Molecular Cell Biology*. W.H. Freeman, New York, 4ª edição.
- Lorena, A. C. (2002). Utilização de técnicas de margens largas na análise de dados biológicos. Qualificação, Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação ICMC/USP, São Carlos.
- Lossos, I. S., Alizadeh, A. A., Eisen, M. B., e Brown, P. O. (2000). Ongoing immunoglobulin somatic mutation in germinal center b cell-like but not in activated b cell-like diffuse large cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(18):10209–13.
- Mendel, G. (1865). Versuche über pflanzen-hybriden. *Verhandlungen des Naturforschenden Vereines in Brunn*, IV:3–47. Tradução para o inglês feita por C.T. Drury e William Bateson disponível em <http://www.mendelweb.org/Mendel.html>.
- Michalski, R. S., Carbonell, J., e Mitchell, T. M. (1983). *Machine Learning: an Artificial Intelligence Approach*. Morgan Kaufmann Publishers, Inc.
- Motoda, H. e Liu, H. (2002). Feature selection, extraction e construction. In *Towards the Foundation of Data Mining Workshop, 6th Pacific-Asia Conference on Knowledge Discovery e Data Mining (PAKDD'02)*, page 67–72, Taipei, Taiwan.
- Mukherjee, S. (2003). Classifying microarray data using support vector machines. In Berrar, D., Dubitzky, W., e Granzow, M., editors, *Understanding e Using Microarray Analysis Techniques: A Practical Guide*, pages 166–185, Boston/Dordrecht/London. Kluwer Academic Publishers.
- Mukherjee, S., Tamayo, P., Slonim, D., Verri, A., Golub, T., Mesirov, J., and Poggio, T. (1999). Support vector machine classification of microarray data.
- Ng, R. T., Sander, J., e Sleumer, M. C. (2002). Hierarchical cluster analysis e classification of sage data. In *The 10th International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB)*, Edmond, Canada. Poster.
- Nguyen, D. V. (2005). Partial least squares dimension reduction for microarray gene expression data with a censored response. *Math Biosci.*, 193(1):119–37.

- Noble, W. S. (2001). *Kernel Methods in Computational Biology*, chapter Support vector machine applications in computational biology, pages 71-92. MIT Press, Cambridge, MA.
- Nutt, C. L., Mani, D. R., Betensky, R. A., e Tamayo, P. (2003). Gene expression-based classification of malignant gliomas correlates better with survival than histological classification. *Cancer Res.*, 63(7):1602-7.
- Okura, V. K. (2002). Bioinformática de projetos genoma de bactérias. Dissertação, UNICAMP, Campinas, SP.
- Ooi, C. H. e Tan, P. (2003). Genetic algorithms applied to multi-class prediction for the analysis of gene expression data. *Bioinformatics*, 19(1):37-34.
- Perou, C. M., Sørlic, T., Eisen, M. B., van de Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., Pollack, J. R., Ross, D. T., Johnsen, H., Akslen, L. A., Øystein Fluge, Pergamenschikov, A., Williams, C., Zhu, S. X., Lønning, P. E., Børresen-Dale, A.-L., Brown, P. O., e Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 406:747-752.
- Peterson, D. A. (2004). Svm model selection for microarray classification. Poster Session at Eighth Annual International Conference on Research in Computational Molecular Biology (RECOMB 2004).
- Potamias, G., , e et al (2004). Gene selection via discretized gene-expression profiles e greedy feature-elimination. In *Proceedings of the SETN 2004*, volume 3025 of *LNCS*, pages 256-266, Grécia. Springer Verlag.
- Quackenbush, J. (2001). Computational analysis of microarray data. *Nat Rev Genet*, 2(6):418 - 27.
- Rakotomamonjy, A. (2003). Variable selection using svm based criteria. *J. Mach. Learn. Res.*, 3:1357-1370.
- Schena, M. (1999). *DNA Microarrays: A Practical Approach*. Practical Approach Series. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra, 11 edition.
- Shamir, R., Torok, D., e Shtainhart, A. (2002a). Analysis of gene expression data, dna chips e gene networks lecture notes.

- Shamir, R., Torok, D., e Shtainhart, A. (2002b). Analysis of gene expression data, dual chips e gene networks lecture notes.
- Sharan, R., Elkon, R., e Shamir, R. (2002). Cluster analysis e its applications to gene expression data. In *Ernst Schering Res Found Workshop*, volume 38, pages 83–108.
- Silva, F. H. (2001). Módulo: Biologia molecular. In *I Escola Brasileira de Inteligência Artificial e Bioinformática InBio São Carlos*, São Carlos.
- Slonim, D. K., Tamayo, P., Mesirov, J. P., Golub, T. R., e Lander, E. S. (2000). Class prediction e discovery using gene expression data. In *RECOMB*, pages 263–272.
- Smola, A. J. e Schoolkopf, B. (2002). *Learning with Kernels*. MIT Press.
- Spellman, P. T., Sherlock, G., Zhang, M. Q., Iyer, V. R., Anders, K., Eisen, M. B., Brown, P. O., Botstein, D., e Futcher, B. (1998). Comprehensive identification of cell cycle-regulated genes of the yeast *saccharomyces cerevisiae* by microarray hybridization. *Molecular Biology of the Cell*, 9:3273–3297.
- Stollberg, J., Urschitz, J., Urban, Z., e Boyd, C. D. (2000). A quantitative evaluation of sage. *Genomic Research*, 10:1241–1248.
- Takeuchi, K. e Collier, N. (2004). Bio-medical entity extraction using support vector machines. *Artificial Intelligence in Medicine*. Versão eletrônica disponível em <http://www.elsevierhealth.com/journals/aiim/>.
- Tamayo, P., Slonim, D., Mesirov, J., Zhu, Q., Kitareewan, S., Dmitrovsky, E., Lander, E. S., e Golub, T. R. (1999). Interpreting patterns of gene expression with self-organizing maps. In *Proc Natl Acad Sci USA*, volume 96, pages 2907–2912. National Academy of Sciences.
- Theodoridis, S. e Koutroumbas, K. (1999). *Pattern Recognition*. Academic Press, CA, USA, 1 edition.
- Tu, Y., Stolovitzky, G., e Klein, U. (2002). Quantitative noise analysis for gene expression microarray experiments. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 99(22):14031–6.
- Vapnik, V. e Chapelle, O. (2000). Bounds on error expectation for support vector machines. *Neural Computation*, 12(9).

- Vapnik, V. e Chervonenkis, A. (1964). A note on one class of perceptrons. *Automation e Remote Control*, 25.
- Vapnik, V. N. (1995). *The nature of statistical learning theory*. Springer-Verlag New York, Inc.
- Velculescu, V. E., Zhang, L., Vogelstein, B., e Kinzler, K. W. (1995). Serial analysis of gene expression. *Science*, 270:484-487.
- Venter, C., Adams, M. D., Myers, E. W., e Li, P. W. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, 291:1304-1351. In Review.
- Waghray, A., Feroze, F., Schober, M. S., Yao, F., Wood, C., Puravs, E., Krause, M., Hanash, S., e Chen, Y. Q. (2001). Identification of androgen-regulated genes in the prostate cancer cell line lncap by serial analysis of gene expression e proteomic analysis. *Proteomics*, 10:1615-1681.
- Wahba, G. (1999). Support vector machine, reproducing kernel hilbert spaces e the randomized gacv. In B. Scholkopf, C. Burges, A. S., editor, *Advances in Kernel Methods-Support Vector Learning*, Cambridge, MA. MIT press.
- Wall, M. B. (1996). *A Genetic Algorithm for Resource-Constrained Scheduling*. Tese de doutorado, Department of Mechanical Engineering, Massachusetts Institute of Technology, Boston, MA.
- West, M., Blanchette, C., Dressman, H., e Huang, E. (2001). Predicting the clinical status of human breast cancer by using gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(20):11462-7.
- Weston, J., Elisseeff, A., BakIr, G., e Sinz, F. (2003a). *PIDER: object-orientated machine learning library*. Software available at <http://www.kyb.tuebingen.mpg.de/bs/people/spider/>.
- Weston, J., Elisseeff, A., Scholkopf, B., e Tipping, M. (2003b). Use of the zero norm with linear models e kernel methods. *J. Mach. Learn. Res.*, 3:1439-1461.
- Weston, J., Mukherjee, S., Chapelle, O., Pontil, M., Poggio, T., e Vapnik, V. (2000). Feature selection for SVMs. In *NIPS*, pages 668-674.

- Whitley, D. (1994). A genetic algorithm tutorial. *Statistics e Computing*, 4:65–85.
- Wilcoxon, F. (1945). Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics*, 1:80–83.
- Witten, I. H. e Frank, E. (2000). *Data Mining: Practical Machine Learning Tools e Techniques with Java Implementations*. Morgan Kaufmann, San Francisco.
- Wolfsberg, T. G. e Landsman, D. (2001). *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*. chapter Expressed Sequence Tags (ESTs), pages 283–299. Wiley Interscience. New York, second edition edition.
- Xing, E. P. (2003). Feature selection in microarray analysis. In Berrar, D., Dubitzky, W., e Granzow, M., editors, *Understanding e Using Microarray Analysis Techniques: A Practical Guide*, pages 110–131, Boston/Dordrecht/London. Kluwer Academic Publishers. To appear.
- Yang, J. e Honavar, V. G. (1998). Feature subset selection using a genetic algorithm. *IEEE Intelligent Systems*, 13(2):44–49.
- Yang, Y. H., Buckley, M. J., Dudoit, S., e Speed, T. P. (2000). Comparison of methods for image analysis on cdna microarray data. Technical Report 584, Department of Statistics, University of California at Berkeley.
- Yu, L. e Liu, H. (2004). Efficient feature selection via analysis of relevance e redundancy. *Journal of Machine Learning Research*, 5:1205–1224.
- Zhang, J. e Liu, Y. (2002). Svm decision boundary based discriminative subspace induction. Technical Report cmu-ri-tr-02-15, Robotics Institute, Carnegie Mellon University.
- Zhang, L., Zhou, W., Velculescu, V. E., Kern, S. E., Hruban, R. H., Hamilton, S. R., Vogelstein, B., e Kinzler, K. W. (1997). Gene expression profiles in normal e cancer cells. *Science*, 276:1268–1272.
- Zheng, S., Liu, J., e Tian, J. W. (2004). A new efficient svm-based edge detection method. *Pattern Recognition Letters*, 25(10):1143–1154.