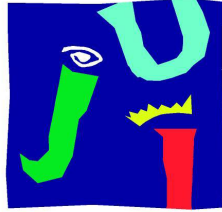


# CONTRIBUTIONS TO STATISTICAL LEARNING FOR MAGNETIC RESONANCE IMAGES



**UNIVERSITAT  
JAUME I**

Tesis doctoral presentada por:

**Noelia Ventura Campos**

Para obtener el grado de doctora por la Universitat Jaume I de  
Castellón

Directores:

Dra. Irene Epifanio López

Dr. César Ávila Rivera

Programa de doctorado en Matemática Computacional

Departamento de Matemáticas

Universitat Jaume I

Castellón, Enero 2013



*A mis padres por ser el pilar fundamental de mi vida, pero sobre todo  
a mi hermana por su apoyo incondicional y confianza.*



*“La mente que se abre a una nueva idea, jamás volverá a su tamaño original”*

*Albert Einstein*

*“The quiet statisticians have changed our world; not by discovering new facts or technical developments, but by changing the ways that we reason, experiment and form our opinions ...”.*

*Ian Hacking*



## AGRADECIMIENTOS

Los agradecimientos de una tesis es el capítulo más difícil de escribir, ya que es a ciencia cierta la parte que todo el mundo leerá. Son muchas las personas, ya sea de forma activa o pasiva, que me han alentado a seguir, y me han hecho el trabajo más llevadero. A todas ellas muchas gracias por creer en mi.

Quedo especialmente agradecida a mis dos directores de tesis. Agradecer a la Dra. Irene Epifanio el tiempo, la paciencia y la ayuda prestada en todo momento. Gracias por el ánimo infundido y la confianza que ha depositado en mi, parecía que este día nunca iba a llegar, pero al final todo esfuerzo recibe su merecida recompensa. Gracias al Dr. César Ávila, por su calidad científica y humana, por su apoyo y dedicación, pero sobre todo por acogerme en su grupo de investigación y abrirme las puertas al mundo de la neuroimagen que tanto me apasiona. Sin él hoy no estaría escribiendo estas líneas. A los dos, mil gracias!!

Gracias a la Dra. Maria Antonia Parcet, por su confianza mostrada durante estos años.

Que decir de mis compañeros de grupo, ellos ya saben lo que representan para mí. A la Dra. Ana Sanjuán, por su amistad, confianza y por hacer que todo resulte tan sencillo. Gracias simplemente por estar ahí, aunque tu estés en Londres y yo en... Castellón. Al Dr. Alfonso Barrós, por iniciarme en la neuroimagen con el “To smooth or not to smooth?” (esto debería patentarse como un rito de iniciación), por esos “raticos” y sobre todo por la ayuda que me ha prestado durante estos años. Al Dr. Juan Carlos Bustamante, por ser tan positivo y por el ánimo recibido en esta última etapa de la tesis, tenemos una inmensa suerte de contar contigo en este grupo, ánimo en Australia, te lo mereces!. Gracias a la Dra. Cristina Forn por sus consejos y su visión de la vida. A Javi Garcia-Panach, por su reciente llegada y por acompañarme en este mundo de psicólogos, por saber escucharme y darme su apoyo en momentos de agobio. A Víctor, por sus constantes preguntas (aunque no sea miércoles) que hacen que aprenda cosas nuevas cada día. Gracias a Paola y Patricia, por vuestra “personalidad”;-) tan especial. A Aina, Javi Cruz y Alberto, porque ha sido un placer trabajar con todos y cada uno de vosotros. A Maria, por su dedicación a la clínica y la investigación. Y como no a mis niñas, Marian y Elisenda, por ser tan constantes y trabajadoras, trabajar con vosotras es un gustazo. Finalmente, agradecer a Maya y ChuanChi, por sus aportaciones y nuevas perspectivas de investigación. Gracias a todos!

Por supuesto no pueden faltar mis amigos Sara, Julian, Chary y Natalia, por ser tan importantes en mi vida, y con especial cariño a mis amigos de la Universidad, Tania, Eva, Mari y Pope, pues con ellos la universidad fue una experiencia maravillosa. Son precisamente ellos los que hacen que la vida sea menos aburrida. Gracias por vuestra amistad incondicional.

Y por último pero no por ello menos importante, a todos los compañeros, amigos y profesores de las Universidades de Barcelona, Valencia y País Vasco, por todos los conocimientos que me han aportado en toda mi etapa investigadora.

Especialmente agradecer y dedicar esta tesis a mis padres, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos y por el valor que me han infundado por salir adelante. Y a mi hermana Merche, por ser mi hermana y mi amiga, así como un ejemplo de luchadora nata.





# Índice general

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento de la investigación . . . . .	1
1.2. Organización de la tesis . . . . .	3
<b>2. BASES TEÓRICAS Y METODOLOGÍA UTILIZADA</b>	<b>5</b>
2.1. La enfermedad de Alzheimer y su diagnóstico . . . . .	5
2.1.1. El Deterioro Cognitivo Leve (DCL) . . . . .	6
2.1.2. La memoria en la enfermedad de Alzheimer y el Deterioro Cognitivo Leve	8
2.1.3. Resonancia Magnética y volumetría en la enfermedad de Alzheimer . . .	10
2.1.3.1. Anatomía y segmentación del Hipocampo . . . . .	11
2.2. Aprendizaje y plasticidad cerebral . . . . .	13
2.3. Segregación funcional e integración funcional del cerebro . . . . .	14
2.4. Imágenes de Resonancia Magnética (IRM). . . . .	15
2.4.1. Adquisición de IRM . . . . .	15
2.4.2. Resonancia Magnética funcional . . . . .	17
2.4.3. Paradigma . . . . .	18
2.4.3.1. Diseño de bloques . . . . .	19
2.4.3.2. Diseño de eventos . . . . .	20
2.4.3.3. Diseños Mixtos . . . . .	21
2.4.3.4. Diseños “Sparse Sampling” . . . . .	21
2.4.4. Análisis estadísticos de RMf basado en tarea . . . . .	22
2.4.4.1. Preprocesado de las imágenes de RMf . . . . .	23
2.4.4.2. Modelo Lineal General . . . . .	26
2.4.5. Estado de reposo y Conectividad Funcional . . . . .	31
2.4.5.1. Preprocesado para imágenes de RMf en estado de reposo . . . . .	32

2.4.5.2.	Análisis de conectividad funcional . . . . .	33
2.5.	Introducción al Análisis de Componentes Independientes (ICA) . . . . .	42
2.5.1.	Definición de ICA . . . . .	43
2.5.2.	Independencia: Definición y propiedades . . . . .	44
2.5.3.	Principios de la estimación de ICA . . . . .	44
2.5.3.1.	Medidas no-gaussianas o de no-normalidad . . . . .	44
2.5.3.2.	Minimización de la información mutua . . . . .	48
2.5.3.3.	Estimación de máxima verosimilitud . . . . .	49
2.5.4.	ICA y el preprocesado previo de los datos . . . . .	49
2.5.4.1.	Centrado de los datos . . . . .	49
2.5.4.2.	Blanqueo de los datos . . . . .	50
2.5.5.	ICA vs PCA . . . . .	50
2.5.5.1.	Análisis de Componentes Principales (PCA) . . . . .	50
2.5.5.2.	Comparamos ICA y PCA . . . . .	51
2.5.6.	Algoritmos . . . . .	53
2.6.	Clasificación de Datos Funcionales . . . . .	55
2.6.1.	Análisis de Datos Funcionales (FDA) . . . . .	55
2.6.1.1.	Representación de los datos: Suavizado y/o interpolación . . . . .	56
2.7.	Análisis Discriminante Lineal . . . . .	66
2.7.1.	Discriminación lineal de Fisher . . . . .	66
2.8.	Discriminación de datos funcionales . . . . .	70
<b>3.</b>	<b>MARCO EXPERIMENTAL</b>	<b>73</b>
3.1.	Objetivos de la investigación . . . . .	73

### I Estudio 1:

**Functional data analysis in shape analysis.**

**Epifanio I. and Ventura-Campos N.**

*Computational Statistics and Data Analysis* [1]

**77**

### II Estudio 2:

**Hippocampal shape in Alzheimer's disease using Functional data analysis.**

**Epifanio I. and Ventura-Campos N.**

---

<i>Biostatistics</i> [2]	79
III Estudio 3: Spontaneous brain activity predicts learning ability of foreign sounds. Ventura-Campos N., Ávila C. y Cols. <i>Journal of Neuroscience</i> [3]	81
4. CONCLUSIONES Y PRINCIPALES APORTACIONES	83
5. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS	87



# Capítulo 1

## INTRODUCCIÓN

### 1.1. Planteamiento de la investigación

Desde principios de los años 90, los estudios de neuroimagen mediante las aplicaciones derivadas de la Resonancia Magnética (RM) ha llegado a ser la técnica más relevante en investigación sobre cerebro humano, ya que no requiere que las personas se sometan a inyecciones, cirugías, ingesta de sustancias, o estar expuesto a la radiación. Las diversas aplicaciones de la RM nos permiten estudiar la anatomía y estructura cerebral in vivo de forma no invasiva. Además, nuevas formas de adquisición de imágenes nos facilitan el estudio de la actividad cerebral, ofreciéndonos la oportunidad de conocer el funcionamiento del cerebro humano. Esta técnica se conoce como Resonancia Magnética funcional (RMf).

El cerebro es el órgano más complejo del cuerpo humano. La aparición de las nuevas técnicas tomográficas de neuroimagen ha permitido por vez primera un estudio de toda su estructura y su función de forma conjunta, lo que permite abordar no sólo el conocimiento de cada zona de forma aislada, sino de toda la actividad conjunta de forma simultánea. Cabe pensar que las imágenes del cerebro obtenidas mediante RM estructural subdividen al mismo en miles de unidades conocidas como vóxeles que se comportan de forma independiente. El análisis conjunto de esos vóxeles a nivel estructural y añadiendo las diversas repeticiones en el tiempo en los casos de estudios funcionales, supone un reto de desarrollo matemático de los que no se conocen hasta ahora los límites. Este trabajo supone un paso más en ese objetivo, planteando nuevas formas de análisis de datos estructurales y funcionales con el objetivo de resolver problemas neurocientíficos.

En esa línea, las investigaciones sobre implementación y aplicación de modelos estadísticos en los análisis de neuroimagen han ido creciendo a lo largo de los últimos años, obteniendo cada vez una metodología más compleja y avanzada. De forma cada vez más frecuente, las nuevas aplicaciones de modelos estadísticos producen resultados sorprendentes sobre como estudiar la estructura y el mecanismo cerebral, añadiendo estos modelos a las bases fundamentales del estudio de la imagen de RM. La idea principal del desarrollo e implementación de estos nuevos modelos, es dar sentido a la información que obtenemos de las imágenes de RM y conseguir contestar a determinadas preguntas o hipótesis formuladas en el estudio del cerebro humano. Hay que señalar que los estudios de RM disponen de una cantidad ingente de datos tanto en tamaño como en complejidad. El objetivo es extraer de las imágenes la información importante y entender “qué nos dicen los datos”, o como Hastie y cols (2009) [4] lo llaman “*aprender a*

*partir de los datos”.*

El *aprendizaje a partir de los datos* ha dado lugar a una revolución tanto en la ciencia estadística como en el campo de la neurociencia computacional, introduciendo lo que conocemos como **Teoría de aprendizaje estadístico** (o “Statistical learning”, en inglés). En particular, estos modelos aplicados a imágenes de RM, captan las características esenciales del sistema neural en múltiples escalas espacio-temporales desde la arquitectura topográfica del cerebro, a oscilaciones de redes neuronales, entre otras.

El **aprendizaje estadístico** puede ser categorizado como un **aprendizaje supervisado** o un **aprendizaje no-supervisado**. En el aprendizaje supervisado, el objetivo es predecir el valor de una medida de salida (*output*), basándose en una serie de medidas de entrada (*input*), es decir, se trata de una técnica para deducir una función a partir de datos de entrenamiento que nos permita predecir la salida para nuevos datos. Los datos de entrenamiento consisten en pares de objetos: un componente del par son los datos de entrada y el otro, los resultados de salida. La salida de la función puede ser un valor numérico (como en los problemas de regresión) o una etiqueta de clase (como en los de clasificación). El objetivo del aprendizaje supervisado es el de crear una función capaz de predecir el valor correspondiente a cualquier objeto de entrada válida después de haber visto una serie de ejemplos, los datos de entrenamiento. Por otro lado, en el aprendizaje no-supervisado, no hay variable de salida, es decir, no se tiene información sobre las categorías o resultados de los datos, y el objetivo es describir las asociaciones y patrones entre un conjunto de medidas de entrada. Entre las técnicas de aprendizaje no-supervisado destacan el análisis clúster, el análisis de componentes principales (PCA, en inglés) y el análisis de componentes independientes (ICA, en inglés).

A lo largo de esta tesis, se describen las contribuciones al aprendizaje estadístico desarrollado e implementado en imágenes de RM. Concretamente, describiremos la contribución de los análisis de ICA, perteneciente al aprendizaje no-supervisado, en la mejora de la metodología existente. Ésta mejora metodológica es desarrollada y aplicada en este trabajo para las distintas técnicas de adquisición de imagen:

1) El análisis de imágenes anatómicas adquiridas mediante Resonancia Magnética estructural (RMe) abre fascinantes perspectivas para la comprensión de los trastornos neurológicos y psiquiátricos. Se trata de un análisis automático y reproducible, que permite estudios cuantitativos a gran escala para descubrir patrones de anormalidad estructural asociados a las distintas patologías.

En esta tesis, describiremos una nueva metodología para los análisis de **RMe**, introduciendo la técnica de Análisis de Datos Funcionales (*FDA* - “Functional Data Analysis”, inglés) en el estudio de una estructura anatómica cerebral, siendo ésta una técnica novedosa dentro de los análisis de imágenes de RM. El concepto de *FDA* es bastante nuevo (el primer libro de *FDA* fue publicado en 1997 [5]), aunque en los últimos años se han desarrollado interesantes aplicaciones en diferentes campos de investigación [6], considerándose una técnica de análisis efectiva para observaciones funcionales. Destacar sin embargo, que *FDA* apenas ha sido utilizada en análisis de imagen (que nosotros conozcamos solo un artículo ha usado *FDA* para el análisis de imagen bidimensional [7]). *FDA* es una rama de las matemáticas, en concreto de la estadística, que nos proporciona los procedimientos estadísticos necesarios para analizar la información contenida en las series temporales o funciones, es decir, en curvas, superficies, o cualquier elemento que varía sobre un continuo, generalmente en el tiempo. La importancia del análisis de datos funcionales

radica en gran medida en el valor de los indicadores o magnitudes con naturaleza funcional. Estas señales podemos encontrarlas en las imágenes de RM, no solo en RMe como se aplica en los dos primeros estudios, sino también en RMf.

Los dos primeros estudios de esta tesis aportan una mejora metodológica dentro de la clasificación de datos funcionales para formas bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D), comparada con los resultados y análisis conocidos hasta la fecha. Se propone una función discriminante basada en ICA, que permite obtener una mejora en la clasificación de los datos. Esta metodología es implementada a posteriori en los datos de RMe, mostrando muy buenos resultados para la clasificación de los sujetos pertenecientes a tres grupos: sujetos sanos, pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA). Estos estudios han dado lugar a dos artículos, el primer artículo publicado en *Computational Statistics and Data Analysis* en 2011 y el segundo está actualmente sometido en *Biostatistics*.

2) El análisis en imágenes de **RMf**, como ya hemos comentado, nos proporciona información sobre los mecanismos cerebrales. En esta tesis, aportaremos un nuevo método de análisis para el estudio de la plasticidad cerebral en procesos de aprendizaje. Esta nueva aproximación se basa en la combinación de dos técnicas de adquisición de imágenes de RMf: RMf basada en tarea y RMf en estado de reposo. De esta manera, el cambio de actividad neuronal evaluado en el proceso de aprendizaje de una tarea servirá como guía para determinar las zonas de interés en el cerebro en estado de reposo y con ello, para estudiar la conectividad intrínseca de las redes neuronales asociadas al aprendizaje, en procesos de entrenamiento a largo y corto plazo, así como qué cambios debidos al entrenamiento ayudan a optimizar su ejecución. Estos análisis se implementarán, entre otros (descritos en las secciones 2.4.3 y 2.4.5), mediante un análisis de ICA, seleccionando con estos análisis los patrones o redes cerebrales (“Resting-State Networks” [**RSNs**], en inglés) existentes en el estado de reposo. Este estudio ha dado lugar a un artículo sometido a segunda revisión en la revista *Journal of Neuroscience*.

## 1.2. Organización de la tesis

Esta tesis presenta tres estudios basados en imágenes obtenidas mediante RM, para el análisis de la estructura y funcionamiento cerebral, aplicando modelos estadísticos ya conocidos y nuevas metodologías desarrolladas en estos estudios al campo de la neuroimagen.

Para introducir el estado del arte, en el capítulo 2 se ha realizado un estudio detallado de las bases teóricas utilizadas, en la que se examinará la enfermedad de Alzheimer y su diagnóstico, y el aprendizaje y plasticidad cerebral como punto de partida. A continuación definiremos qué es la Resonancia Magnética, diferenciando en términos de adquisición (RMe y RMf), así como los conceptos genéricos de la RMf. Detallaremos la adquisición y análisis utilizados para los datos de RMf adquiridos en tarea y en estado de reposo. Y por último, describimos los métodos estadísticos utilizados para llevar a cabo los objetivos de la tesis. En el capítulo 3 se describen las aportaciones y objetivos de la tesis, y los tres estudios realizados mostrando de manera detallada los datos utilizados, la metodología y los resultados. Para finalizar, los capítulos 4 y 5 presentan las conclusiones de este trabajo y las líneas futuras de investigación.





## Capítulo 2

# BASES TEÓRICAS Y METODOLOGÍA UTILIZADA

### 2.1. La enfermedad de Alzheimer y su diagnóstico

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más frecuente de demencia, representando entre un 50 y 80 % de las mismas [8]. El progresivo envejecimiento de la población ha llevado a índices de prevalencia de la enfermedad cada vez más altos. Estos índices se doblan cada 4 o 5 años a partir de los 60 años de edad, por lo que una persona de 80 años tiene una probabilidad mayor del 30 % de padecer la enfermedad [9].

En el diagnóstico actual de EA existe un acuerdo bastante extendido en la aplicación de los criterios diagnósticos propuestos por McKhann y cols (1984) [10]. Estos criterios establecen tres posibilidades de diagnóstico de acuerdo a la probabilidad de padecer la enfermedad: EA posible, EA probable y EA definitiva. El diagnóstico de EA posible se caracteriza, en términos generales, por la presencia de síntomas clínicos que indican un deterioro en dos o más funciones cognitivas; pero todavía no se ha podido descartar que una segunda enfermedad sea la causa del deterioro. La EA probable implica la presencia de dos o más funciones cognitivas alteradas, pero se debe haber descartado la posibilidad de demencia secundaria a otra enfermedad. Y el diagnóstico de EA definitiva se establece post-mortem mediante autopsia cuando el paciente presenta placas neuríticas u ovillos neurofibrilares. Así, la EA se puede caracterizar en dos niveles por: 1) un deterioro progresivo del funcionamiento cognitivo, comportamental y social de la persona afectada, 2) y una presencia de apósitos amiloides y ovillos neurofibrilares, pérdida neuronal y sinapsis [9].

Éstos no han sido los únicos criterios propuestos para el diagnóstico de la EA. En el manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (en inglés Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM) DSM-IV y la CIE-10 (clasificación internacional de enfermedades), como en los criterios de McKhann y cols. (1984) se mantiene la alteración de la memoria como criterio básico, más la alteración de otros procesos cognitivos como el lenguaje, las praxias (“saber hacer”, conducir, peinarse, etc.), las gnosias (“saber reconocer”, implica percepción, reconocimiento y denominación de los estímulos provenientes de un objeto) o las funciones ejecutivas. De la misma forma se hace énfasis en el deterioro progresivo de estas funciones y su interferencia en la vida cotidiana de la persona; por último, estas alteraciones no pueden ser atribuidas a otras

enfermedades sistémicas o neurológicas. Aunque son más fiables de cara al diagnóstico, estos criterios parecen aplicarse a casos en los que el deterioro es mucho más evidente.

En este trabajo, el diagnóstico de los pacientes con EA se ajustó a los criterios de EA probable, de acuerdo a los criterios diagnósticos NINCDS/ADRDA de McKhann y cols (1984). Los pacientes diagnosticados con EA probable se caracterizan por la alteración de dos o más funciones cognitivas. Entre éstas, la memoria, además de las otras funciones posibles, deben haber mostrado un deterioro progresivo. En ese momento todavía no existe una alteración del nivel de conciencia, ni alteraciones sistémicas u otras enfermedades cerebrales que pudieran ser causantes del deterioro cognitivo. McKhann y cols. (1984) proponen la aplicación de pruebas diagnósticas mediante examen clínico de tipo screening. En este trabajo se aplicó la escala Clinical Dementia Rating (del inglés; “Clinical Dementia Rating”, CDR [11]) para la valoración general del estado cognitivo y funcional. Pero, además, se llevó a cabo una evaluación detallada de distintas funciones cognitivas de memoria, lenguaje, habilidades visuo-perceptivas y visuo-constructivas, como se detalla más adelante. La edad de inicio de la enfermedad se establece dentro de un rango que va de los 40 a los 90 años, indicando una mayor frecuencia a partir de los 65 años. Para este trabajo se estableció la edad de 65 años como criterio de inclusión, dado que manifestaciones anteriores han sido consideradas como precoces o preseniles (clasificación de la OMS; CIE10); y también se han establecido diferencias en el deterioro cognitivo y cerebral que se han asociado a posibles factores genéticos [12].

### 2.1.1. El Deterioro Cognitivo Leve (DCL)

El deterioro cognitivo ha sido considerado una consecuencia normal de la edad y el envejecimiento. Sin embargo, en el ámbito clínico tiene cada vez más relevancia, dada la interferencia que genera en la vida cotidiana [13] y su relación con el diagnóstico precoz de la EA [14]. El deterioro cognitivo se considera como patológico cuando supera el esperable por la edad. El momento de inicio de este deterioro es incierto, pero probablemente se extiende durante muchos años antes del primer diagnóstico de EA [14].

La probabilidad de que el deterioro que lleva al diagnóstico de EA se manifieste en formas más leves en años anteriores al diagnóstico, ha dado pie a la descripción de distintas entidades diagnósticas que contemplen este estadio preclínico desde hace muchos años. La primera entidad diagnóstica propuesta fue el Olvido Senil Benigno (del inglés; “Benign Senescent Forgetfulness”) que hacía referencia a cambios cognitivos normales que aparecían con la edad [15]. Después el National Institute of Mental Health Work Group propuso el diagnóstico de Alteración de memoria asociada a la edad (del inglés: “Age-associated memory impairment”, AAMI), similar a la entidad propuesta por Kral (1962), pero ofreciendo criterios específicos de diagnóstico de la función de memoria en relación a los datos normativos del grupo de edad de adultos-jóvenes [16]; esto hace que su diagnóstico sea muy dependiente del instrumento de evaluación utilizado. Sin embargo, los conceptos expuestos hasta aquí reflejan extremos dentro de un deterioro normal asociado a la edad.

En 1994, Levy y sus colaboradores del International Psychogeriatric Association acuñaron el término de Deterioro Cognitivo Asociado a la Edad (del inglés: “Age-related Cognitive Decline”). Éste hace referencia a la condición en la que se presenta una alteración leve de múltiples procesos [17]; sin embargo, este último término supone una entidad muy heterogénea como diagnóstico precoz de la EA, dado el rango de posibles procesos alterados.

Con el tiempo, la normalidad asociada a estos estados de deterioro previo a la EA ha sido criticada. Ello hizo que aparecieran nuevos conceptos que definían un estado de alteración cognitiva subclínica asociada a estados patológicos como el Trastorno Cognitivo Leve (CIE 10, OMS, 1993), Trastorno Neurocognitivo Leve (DSM IV) o Deterioro Cognitivo Leve (DCL) [18]. Petersen y cols. (1999) [19] propusieron el concepto de DCL (del inglés; “Mild cognitive impairment”) haciendo referencia a una alteración de la memoria informada de forma subjetiva por el paciente o un familiar y evidenciada mediante la evaluación clínica, manteniéndose un funcionamiento cognitivo general normal. Esta categoría es actualmente la que más se está investigando y la más utilizada a nivel clínico. La aplicación del diagnóstico de DCL en la investigación presenta variaciones en determinadas operacionalizaciones de las variables [14]; pero básicamente presenta unos criterios específicos por lo que fue la entidad diagnóstica elegida para el estudio como entidad prodrómica o predictiva de posible deterioro a EA. Estos criterios diagnósticos se basan en:

1. Queja subjetiva de memoria.
2. Funcionamiento cognitivo general normal
3. Funcionamiento intacto en las actividades de la vida diaria.
4. Alteración de la memoria.
5. No cumplir criterios de diagnóstico de demencia.

En el diagnóstico de DCL, es importante señalar que los criterios de Petersen y cols. (1999) presentan variaciones en su aplicación [14], y aunque los criterios diagnósticos están aparentemente bien definidos, no hay un estricto consenso [20, 21, 13]. Esta falta de acuerdo en el diagnóstico de la enfermedad viene dado por distintas consideraciones. La propuesta de Petersen y su grupo de la presencia de una alteración objetiva de memoria en ausencia de otras alteraciones cognitivas tiene dos problemas fundamentales: los pacientes con DCL, además de presentar un déficit de memoria originalmente, también pueden presentar alteraciones en tareas de otros ámbitos como, por ejemplo, el lenguaje con componentes amnésicos (por ejemplo denominación)[19] y, además, la limitación del déficit al ámbito de la memoria hace que aunque este síndrome aislado se presente, su proporción sea muy pequeña (6%). La extensión de esta disfunción a otras áreas cognitivas hace incrementar el diagnóstico de DCL y la probabilidad de padecer una EA. Actualmente, muchos investigadores emplean un diagnóstico clínico basado en el informe neuropsicológico.

De acuerdo a estas ideas, el patrón de deterioro contemplado en nuestro estudio se centró en pacientes que mostraran un DCL que incrementara la probabilidad de su posterior deterioro a EA, es decir, donde una alteración de memoria fuera evidenciada mediante pruebas objetivas para la evaluación de la función. Mientras que la escala de deterioro cognitivo global CDR, se estableció como criterio general del estadio de deterioro funcional de los pacientes con DCL y EA. Esta escala es un instrumento clínico para establecer el estadio de deterioro en las demencias. La escala permite la valoración del estadio a partir de seis dominios cognitivos y funcionales: memoria, orientación, razonamiento y solución de problemas, relaciones sociales, tiempo libre y cuidado personal. La información en relación a estos dominios se obtiene mediante una entrevista semiestructurada con el paciente y su cuidador y la historia clínica del paciente. Cada dominio se valora en una escala de 5 puntos (salvo el cuidado personal que se puntúa

sobre 4) y después se aplica el algoritmo de “Clinical Dementia Rating Assignment - Biostatistics” (<http://www.biostat.wustl.edu/adrc/cdrpgm/index.html>) o bien siguiendo las indicaciones de la publicación de esta escala [11]. La aplicación de este algoritmo nos permite la obtención de 5 posibles puntuaciones: 0 para la ausencia de deterioro, y 0.5, 1, 2, 3 para demencia muy leve, leve, moderada y grave.

En relación a las pruebas utilizadas en la evaluación y diagnóstico del DCL, la operacionalización de los déficits no presentan un consenso en las pruebas psicométricas aplicadas [21]. Mientras que determinados estudios se han centrado en escalas de diagnóstico global o screening como la Escala Clínica de Demencia (CDR) [22, 23] o el Mini-Mental [24]; estos estudios dejan de lado la posibilidad de identificar un déficit cognitivo específico y objetivo de memoria u otras funciones cognitivas. En este trabajo, se aplicó una valoración cognitiva general basada en la Escala Clínica de Demencia [11]; pero también se utilizó una extensa batería neuropsicológica donde se evaluaron de forma objetiva varios dominios cognitivos.

En último lugar, y para situar el estado más actual del concepto de DCL desarrollado por Petersen, hay que señalar que se están contemplando distintas categorías dentro del concepto y diagnóstico del DCL para dar respuesta a la heterogeneidad de su manifestación clínica y su desarrollo hacia la EA [14]. La primera de ellas, y más comúnmente estudiada es el DCL amnésico, caracterizado por un déficit aislado de memoria en ausencia de alteración de otros procesos cognitivos. Otra categoría es el DCL no amnésico con múltiples dominios ligeramente alterados, que no requiere la alteración de la memoria; pero ninguno de los otros procesos alterados está suficientemente deteriorado como para constituir una demencia. Y por último, el DCL con un único dominio cognitivo alterado distinto a la memoria. Los pacientes diagnosticados como DCL de acuerdo a cualquiera de estas tres categorías pueden desarrollar una EA pero también pueden desarrollar otros tipos de demencia (Fig.2.1). En este trabajo, nos hemos centrado en pacientes que muestran un deterioro objetivo de la función de memoria, mientras que el resto de las funciones se mantienen preservadas dentro del rango de edad y nivel educativo, aunque muestren un deterioro en relación a los ancianos sanos, pero en ningún momento indicativo de demencia. Esta distinción es muy importante de cara a la investigación, a diferencia de la práctica clínica, pues la alteración objetiva de un proceso cognitivo distinto a la memoria, aunque en la clínica no implica el diagnóstico de EA, en la investigación genera una heterogeneidad de la muestra que dificulta la interpretación de los resultados.

### 2.1.2. La memoria en la enfermedad de Alzheimer y el Deterioro Cognitivo Leve

La EA y los estadios preclínicos de la enfermedad como el DCL se caracterizan por una alteración común de la memoria episódica [11]. La memoria episódica se define como la adquisición, almacenamiento temporal y recuperación de hechos y acontecimientos [25] (memoria autobiográfica).

Los resultados de la evaluación de la memoria en la EA y el DCL se caracterizan por un mayor déficit para el recuerdo demorado (fase de recuperación del recuerdo con una tarea distractora entre la presentación inicial de la información y el recuerdo posterior, por ejemplo un lista de palabras que se les presenta a los participantes un primer momento y deben ser recordadas posteriormente, después de la realización de otra tarea) que para el recuerdo inmediato (fase de recuperación del recuerdo sin tarea distractora) [26]. Dado que en el recuerdo demorado o a largo

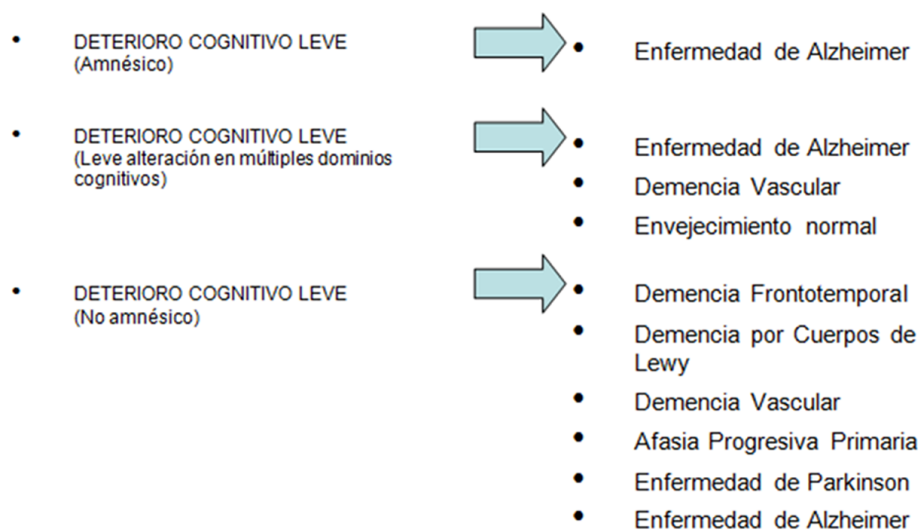


Figura 2.1: Heterogeneidad en el concepto de DCL (Petersen y cols., 2001)

plazo el proceso de consolidación resulta fundamental, estas diferencias son consistentes con un fallo en la transmisión de un almacén temporal, implicado en la memoria inmediata, a otro más permanente [26, 27].

Por otro lado, las diferencias en el déficit de memoria se hacen más evidentes cuando se pide la recuperación del material almacenado mediante recuerdo libre que cuando se aplica una prueba de reconocimiento. Estas diferencias han sido explicadas por la mayor exigencia del recuerdo cuando éste es libre que cuando se realiza un reconocimiento. Al mismo tiempo, un déficit en el recuerdo libre viene explicado por una alteración funcional a nivel del lóbulo temporal, mientras que el reconocimiento se ve empeorado por la afectación o lesión del lóbulo frontal. Estos datos han sugerido la existencia de problemas en la recuperación en los pacientes con EA [26], a parte de las dificultades en la codificación y consolidación, de forma congruente con el deterioro del lóbulo temporal durante la enfermedad.

El tipo de material codificado también hace evidentes diferencias en la memoria episódica. Las pruebas de evaluación de memoria parecen mostrar peores resultados en la memorización de material verbal [28], que de material visual, aunque también esta dificultad está presente [29]. El hecho de manifestarse mayores dificultades en la memorización de material verbal (p.e. palabras o pares asociados) en comparación al material visual (caras o imágenes), ha llevado a considerar al primero un material con un menor número de rasgos disponibles para la codificación. Así, la memoria de material verbal requeriría una codificación más elaborada por parte del individuo. Ello exacerbaría las diferencias por las mayores dificultades en la codificación del material verbal en los pacientes con EA y DCL [26], que requerirían una mayor intencionalidad en la codificación del material, lo que supone una mayor dificultad para estos grupos de pacientes.

En resumen, la evaluación de la memoria episódica en la EA y el DCL muestra: 1) un mayor déficit en el recuerdo demorado a largo plazo en comparación con la evaluación de memoria inmediata a corto plazo; 2) una peor recuperación del material mediante recuerdo libre en comparación con el reconocimiento; y 3) un peor recuerdo del material verbal que no-verbal. Esta

caracterización del déficit en memoria episódica para la EA y el DCL ha sido considerada como una exacerbación de la dificultad en el recuerdo cuando existe una mayor demanda cognitiva [26].

El déficit de memoria episódica en el DCL no debe ser comprendido como un déficit aislado en ausencia de deterioro cognitivo en otras áreas. La definición de DCL ofrecida por Petersen y cols. desde 1997 ha ido variando (1999, 2000, 2001, 2004) intentando dar respuesta al diagnóstico preclínico de la EA. Sin embargo, estudios poblacionales han manifestado ligeros déficits cognitivos en otras áreas cognitivas como el lenguaje [19, 30], o la memoria semántica [19]. El concepto de DCL en este sentido viene entonces delimitado desde dos puntos de vista. Por una lado, un punto de vista conceptual, que define el DCL como un déficit en memoria episódica en ausencia del deterioro en otras áreas. Ello lo diferencia de otras formas de diagnóstico de la EA, como la EA probable, que contempla dos áreas alteradas. Y desde un punto de vista predictivo, en el sentido que solamente el DCL amnésico sería un posible predictor fiable de una evolución a EA; mientras que otras formas de DCL podrían derivar en otros tipos de demencia, como ha sido descrito anteriormente [14]. Sin embargo, esta delimitación lleva a que la entidad en sí pierda valor predictivo por el escaso número de casos en los que este déficit se presenta de forma aislada [21, 13].

En este trabajo nos hemos centrado en el DCL con un déficit objetivo de memoria verbal, como ha sido comúnmente definido y aplicado para estudios que consideran esta entidad diagnóstica como periodo prodrómico a la EA. Este diagnóstico es aplicado a personas que experimentan subjetivamente un problema de memoria, que a su vez se ve corroborada por un familiar cercano. Este déficit debe ser evidenciado mediante pruebas neuropsicológicas que evalúen esta función teniendo en cuenta la edad y el nivel educativo. Así mismo, su ejecución en otros dominios cognitivos debe estar relativamente preservada y tener un buen funcionamiento general en sus actividades de la vida diaria. Obviamente, la posibilidad de incluir a la persona dentro de una demencia, automáticamente excluye la posibilidad de diagnóstico de DCL. Así, la EA se caracteriza fundamentalmente por la alteración de la memoria episódica, pero en presencia de la alteración de otras funciones cognitivas como las praxias, las gnosias, el lenguaje o las funciones ejecutivas. Por otro lado, la EA puede manifestarse en un déficit de lenguaje u otras funciones en lugar de la memoria en un primer lugar, a lo que se ha atribuido distinto grado de heterogeneidad en la manifestación de la enfermedad. Sin embargo, en este aspecto, así como en el caso de la edad de inicio, el primer y principal síntoma manifestado por nuestros enfermos de Alzheimer fue la alteración en la memoria episódica, a parte de en otros procesos cognitivos asociados al diagnóstico. Por último, la preservación e interferencia de las actividades de la vida diaria supone un factor clave.

### 2.1.3. Resonancia Magnética y volumetría en la enfermedad de Alzheimer

La volumetría de RM es una técnica que como su propio nombre indica mide el volumen de determinadas estructuras a partir de imágenes de RM estructural de alta resolución. Este tipo de imágenes nos permite diferenciar entre sustancia gris y blanca, así como entre distintas estructuras cerebrales como el hipocampo. Además, aunque la volumetría es llevada a cabo por una persona experta, también existen procedimientos automáticos que utilizan algoritmos que se aplican como máscaras al hipocampo (p.e. Medtronic Surgical Navigation Technologies, Louisville, CO). Ambos métodos han sido usados, pero cuando han sido directamente contrastados se

observa que el volumen obtenido mediante una segmentación automática es menos consistente que el obtenido mediante una segmentación manual [31]. Ello se puede atribuir a que, a diferencia de lo que se podría esperar, la variabilidad en las medidas tomadas por estos procedimientos automáticos es mayor a la introducida manualmente por especialistas independientes. Esto es debido a errores computacionales producidos por el ruido incluido en las imágenes, lo que reduce la fiabilidad de las medidas.

La volumetría de RM aplicada a la EA se ha centrado en el estudio de los hipocampos principalmente, estableciéndose una relación entre la pérdida neuronal y el volumen de los mismos [32] durante la enfermedad. Los estudios realizados han mostrado diferencias en el volumen de ambos hipocampos entre ancianos sanos y pacientes diagnosticados tanto de DCL como EA. Mientras que en el DCL se observa un mayor volumen de hipocampo que en la EA [31]. Las diferencias en volumen se han extendido también a otras estructuras del lóbulo temporal mesial, como el córtex entorrinal, en relación al deterioro progresivo dentro de la enfermedad, o intentando encontrar diferencias entre distintas demencias [33, 34, 29]. Sin embargo estos estudios muestran una menor replicabilidad [29].

El estudio del volumen general intracraneal o cerebral también ha sido considerado en relación al deterioro [32], aunque éste se aplica como una forma de control de la variabilidad entre sujetos. Su utilización se aplica como una medida del volumen cerebral general en relación al de otras áreas de interés, y centrandó los análisis volumétricos en estructuras cerebrales temporales que muestran un deterioro con la evolución de la enfermedad [29].

### 2.1.3.1. Anatomía y segmentación del Hipocampo

Según estudios post-mortem, los pacientes con Alzheimer presentan un depósito de placas neurofibrilares y pérdida neuronal en la subregión del hipocampo CA1 [35, 36]. En resonancia magnética, no se puede detectar directamente la presencia de placas o la pérdida neuronal, sino que se manifiesta directamente en una reducción del número de vóxeles de sustancia gris. Así pues, al haber una disminución de sustancia gris, cabe esperar una disminución de volumen del hipocampo y en consecuencia un cambio de forma, sobre todo en la subregión CA1, pero también los estudios indican que hay una disminución en sustancia gris del *subiculum*, y por lo tanto, también cabrá esperar menor volumen y un cambio de forma en esta subregión.

Estudios previos muestran que la segmentación manual del hipocampo es un buen marcador de los cambios neurodegenerativos en la EA [37]. Esto hace que el procedimiento más válido para estimar la atrofia sea calculando el volumen hipocampal mediante un trazado manual en una imagen de alta resolución potenciada en T1 de RM. Varios estudios sobre la EA de laboratorios de todo el mundo han reportado una disminución del volumen hipocampal entre el 15 % y el 40 % en pacientes con EA comparados con sujetos sanos, es decir, los pacientes con EA mostraban una mayor atrofia del hipocampo [38]. Sin embargo, los diferentes laboratorios utilizaban puntos de referencia anatómicos y procedimientos de medida distintos. Esta inconsistencia en la aproximación de la medida hace que las estimaciones del volumen “normal” hipocampal difiera en un máximo de 2.5-fold [39]. Un meta-análisis de tasa de atrofia en el tiempo mostró un rango aún más amplio, con tasas que variaban entre 0.32 % a 6.8 % por año [40]. Esto hace imposible que los métodos puedan ser comparables para determinar si estas diferencias reflejan una heterogeneidad neurobiológica o cuanta de esta varianza es determinada por los diferentes protocolos utilizados. Cabe destacar que el procedimiento estándar utilizado para el estudio de la volumetría

del hipocampo, se basa en la segmentación manual en lugar de la evaluación mediante algoritmos automáticos de segmentación [41, 42, 43, 44, 45]. Sin embargo, en ausencia de un protocolo de referencia acordado para la volumetría manual, la comparación de la precisión de los diferentes métodos automáticos es virtualmente imposible.

Un grupo de trabajo internacional ha sido recientemente creado (tabla 3; [46]) con el objetivo de desarrollar un protocolo armonizado capaz de superar la heterogeneidad presente. En este protocolo se seleccionan doce de los protocolos frecuentemente más utilizados para la segmentación manual del hipocampo en la literatura de EA [47] (<http://www.hippocampal-protocol.net>). Siendo de éstos doce, los de Killiany y cols (1993) [48] (173 citas), Convit y cols (1997) [49] (143 citas), Watson y cols (1992) [50] (122 citas) y Soininen y cols (1994) [51] (118 citas) los más utilizados en la literatura (tabla 1; [47]). En este trabajo la segmentación manual del hipocampo esta basada en las indicaciones del protocolo de Watson y cols (1992) [50].

Sin embargo, el volumen del hipocampo es una característica simple, en la que no podemos observar los cambios estructurales en una localización específica de la estructura cerebral a estudiar. Por lo que en este trabajo, nos centraremos en el estudio del análisis de formas.

Por lo tanto, antes de seguir con el estudio, es conveniente tener en mente la anatomía del hipocampo (Fig. 2.2) para ver qué cabe esperar en las diferencias de la forma del hipocampo entre los tres grupos (sujetos sanos, pacientes con DCL y pacientes con EA).

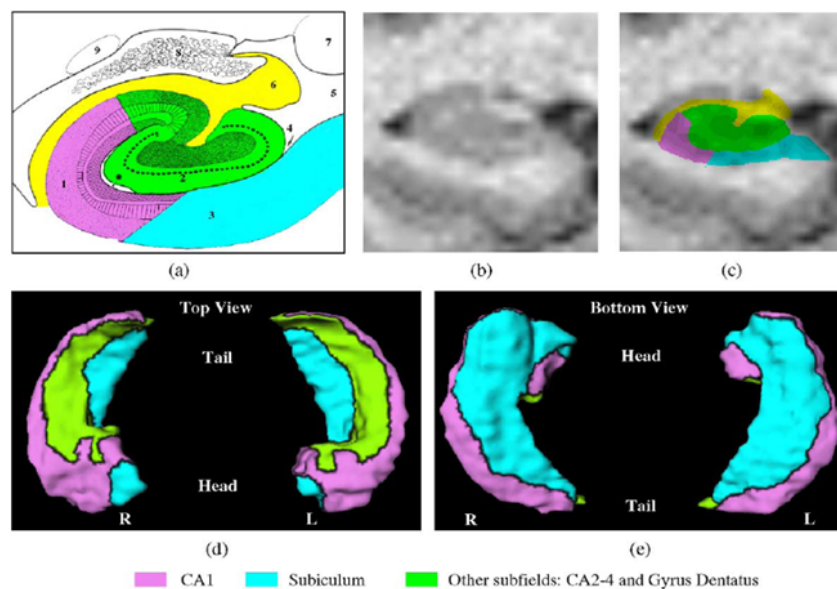


Figura 2.2: Anatomía del Hipocampo (Csernansky, J.G. y cols. [52])



## 2.2. Aprendizaje y plasticidad cerebral

El concepto de plasticidad ha ido variando en la neurociencia en los últimos años. Contrariamente a las afirmaciones de que los cambios en las redes cerebrales se desarrollaban solo durante un crítico período del desarrollo, recientes estudios adoptan la idea de que la plasticidad cerebral es permanente [53, 54, 55]. El concepto de plasticidad cerebral implica aquellos cambios estructurales o funcionales que se producen en el cerebro como adaptación a los cambios en el ambiente, las modificaciones fisiológicas o la experiencia [55]. Siendo la plasticidad una propiedad intrínseca del sistema nervioso conservada a lo largo de la vida, y sin la plasticidad no es posible entender una función psicológica normal o consecuencias de una enfermedad [54].

El cerebro es la fuente de la conducta humana y está modelado por estos cambios. La plasticidad dada por estos cambios es el mecanismo para el aprendizaje, el crecimiento y el desarrollo, que conduce a la remodelación de los circuitos neuronales que puede ser demostrable a nivel de comportamiento, anatomía y fisiología, y a niveles celulares y moleculares [54]. Por lo tanto, los estudios de plasticidad cerebral asociada al aprendizaje es fundamental para entender los factores que determinan la flexibilidad del cerebro para adaptarse a una determinada situación, y en función de determinados aprendizajes la remodelación del sistema, el sujeto puede valerse de experiencias pasadas para evitar conductas indeseables o acelerar aquellas que suponen un beneficio. Cajal (1904) [56] predijo que con la adquisición de nuevas experiencias o habilidades, el cerebro debe de cambiar a través del refuerzo rápido de las conexiones preestablecidas y posteriormente la formación de nuevas vías. Actualmente, se sabe que el primer paso es un requerimiento necesario para que se dé el segundo. Es decir, la formación de nuevas vías es posible solo después del refuerzo inicial de las conexiones [54].

La plasticidad cerebral se focalizó durante muchos años exclusivamente en el estudio del cerebro durante el desarrollo. Más tarde, basándose en los modelos de lesiones, los investigadores examinaron la reorganización de mapas corticales en varias áreas de cerebros adultos y evidenciaban que las redes cerebrales estaban modificadas y que este proceso no se limitaba únicamente a las edades tempranas del desarrollo [57]. Posteriormente, se empezó a estudiar mediante paradigmas de aprendizaje y adquisición de nuevas experiencias, los diferentes aspectos de la plasticidad a nivel del sistema cerebral. A nivel celular diferentes neurotransmisores liberados por sistemas neuromoduladores modificaban los mecanismos de potenciación a largo-plazo (LTP, siglas en inglés) y depresión a largo-plazo (LTD, siglas en inglés) considerada como una información almacenada en la célula [58, 59].

Hasta el momento, la evidencia de reorganización estructural y/o funcional como consecuencia del aprendizaje venía de estudios con animales primates y no primates. En la actualidad, las técnicas de neuroimagen, permiten el estudio de estos procesos en el cerebro humano, de forma no invasiva y en vivo. Por lo tanto, el conocimiento de estos procesos de plasticidad tanto en el cerebro sano como patológico, abre un nuevo campo de investigación en el campo de la neurociencia, en el que la Resonancia magnética (RM) parece tener un papel fundamental.

Los estudios de neuroimagen basados en diseños experimentales (véase la sección 2.4.3) usan aproximaciones transversales (miden el efecto en una muestra poblacional en un solo momento temporal), por lo que realmente existe la duda de si este tipo de diseños es adecuado para el estudio de las posibles modificaciones estructurales o funcionales del cerebro bajo un proceso de aprendizaje. Para intentar solucionar esta cuestión, se han llevado a cabo correlaciones con las horas de exposición o con el nivel de proficiencia. Pero la verdadera respuesta se puede conseguir

investigando las características de la plasticidad cerebral mediante estudios longitudinales [55]. Uno de los aspectos más relevantes para la comprensión del funcionamiento del cerebro y sus posibles modificaciones es el estudio de la conectividad cerebral (véase la sección 2.4.5). Varios estudios recientes, han propuesto que la conectividad estructural y funcional es susceptible a ser alterada por el aprendizaje, debido a un proceso de entrenamiento [60, 61, 62, 63, 64]. Estos estudios de cambio de conectividad cerebral son, probablemente, una de las fuentes metodológicas con más relevancia para el estudio de la plasticidad cerebral debida a procesos de aprendizaje. El estudio de Lewis y cols (2009) sugiere que la experiencia previa en forma de aprendizaje visual perceptual puede cambiar los patrones de actividad cortical espontánea entre diferentes redes neuronales asociadas con el entrenamiento. En resumen, este estudio mostraba que la conectividad funcional reflejaba no solo conectividad estructural, sino también experiencias previas, y que la actividad cerebral en estado de reposo (ver la sección 2.4.5) debe por lo tanto ser representativa de estas experiencias. Otro estudio relevante, en el contexto de entrenamiento de funciones motoras, fue el de Albert y cols (2009), mostrando que el aumento de la conectividad funcional solo se producía cuando los sujetos aprendían una nueva tarea, pero no cuando repetían una tarea familiar con la misma intensidad. Por lo tanto, los últimos estudios parecen señalar que esta actividad espontánea del cerebro está relacionada con la experiencia, y de forma especialmente relevante con el aprendizaje.

### 2.3. Segregación funcional e integración funcional del cerebro

En la historia de la neurología y la neurociencia, los estudios de la función cerebral prestaron un gran interés en los aspectos de localización y función específica [65], destacando los trabajos de Paul Broca y Carl Wernicke, los cuales hipotetizaron que las áreas del lenguaje estaban soportadas por áreas especializadas y funcionalmente segregadas. Este concepto se conoce como **segregación funcional**, y parte de la idea de que determinadas funciones cognitivas se dan en regiones cerebrales concretas. Sin embargo, el análisis de la actividad cerebral global ha determinado que muchas tareas tienen un patrón particular de conexiones neuronales que implica diversas áreas (p.ej reconocimiento de caras), de tal manera no son solo importante unas determinadas áreas, sino cómo están conectadas entre sí, introduciendo con esto el concepto de **integración funcional**. Podemos decir entonces, que el cerebro parece adherirse a dos principios fundamentales de la organización funcional, la **especialización y segregación funcional** y la **integración funcional** [66], lo que separa entre los conceptos de “localización” y “conexión” (ver Fig.2.3). La integración intra y entre las áreas especializadas es llevada a cabo por lo que denominamos conectividad, la cual podemos clasificar en función de la transferencia de información, en **conectividad funcional** y **conectividad efectiva**. La plasticidad cerebral es posible gracias a la distribución y conectividad funcional de áreas físicamente separadas.

La conectividad funcional es equivalente a las medidas estadísticas de correlación, covarianza o coherencia, es decir, la dependencia estadística de las series temporales entre distintas áreas. La conectividad funcional se basa en el estudio de los patrones de correlación temporal que existe entre las distintas unidades neuronales (pero no es direccional). En cambio, la conectividad efectiva es equivalente al término causalidad y transferencia de información, es decir, pretende describir los efectos direccionales de un elemento neuronal sobre otro.

La localización funcional implica que una función puede ser localizada en un área cerebral concreta, mientras que la especialización sugiere que ese área está especializada en algunos aspectos.

tos de procesamiento perceptual o motor, donde esta especialización puede ser anatómicamente segregada en el cerebro. Así, la infraestructura cerebral soportando una simple función, involucra muchas áreas especializadas cuya unión entre ellas es mediada por la integración funcional. Hasta hace poco tiempo, la especialización funcional había sido el principal enfoque de la neuroimagen funcional. Sin embargo, la especialización funcional solo tiene sentido en el contexto de la integración funcional y viceversa, ya que el cerebro no actúa de forma aislada [67]

En esta tesis uniremos los dos conceptos introducidos en este apartado, localización y conectividad funcional, para el estudio de la plasticidad cerebral. Para esto combinaremos dos metodologías de neuroimagen funcional que describiremos con detalle en las siguientes secciones, sección 2.4.3 (**localización y especialización**) y sección 2.4.5 (**conectividad funcional**).

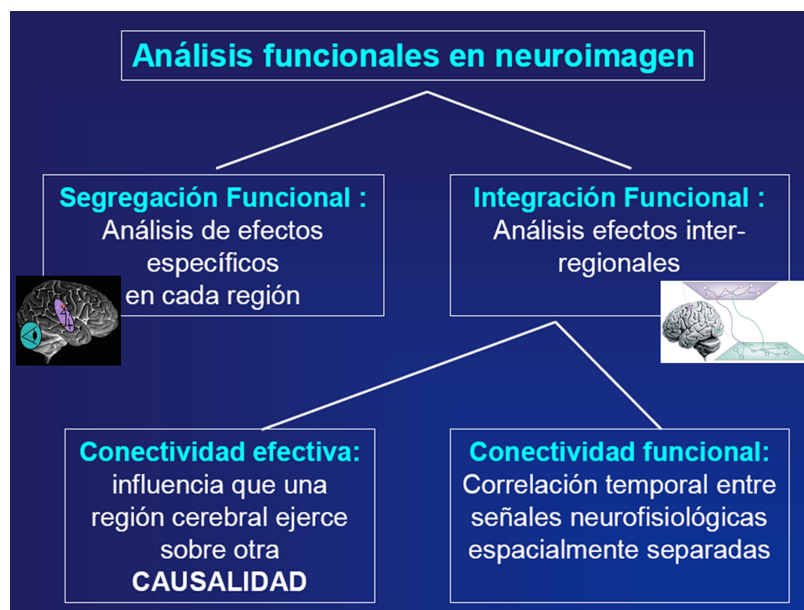


Figura 2.3: **Conceptos básicos** para los análisis funcionales en neuroimagen. **Segregación funcional**, parte de la base de que determinadas funciones cognitivas se encuentran ubicadas en regiones cerebrales concretas (por ejemplo: áreas de Broca y áreas de Wernicke). En cambio, en **Integración funcional**, parte de la base de que las regiones cerebrales no trabajan de forma independiente, sino que ocurren de forma paralela y en una estructura distribuida ya que el cerebro no actúa de forma aislada. Además estas funciones están ligadas de una forma dinámica y no como una sucesión jerárquica.

## 2.4. Imágenes de Resonancia Magnética (IRM).

### 2.4.1. Adquisición de IRM

La Resonancia Magnética consiste en la utilización de campos magnéticos intensos para la creación de imágenes de tejido biológico. Estos campos magnéticos, cuya unidad de medida es el Tesla (un Tesla es igual a 10000 Gauss) son generados por el electroimán del escáner de resonancia. La intensidad de estos campos magnéticos en estudios con humanos está entre 0.5

y 9.4T. Los escáneres aplican las denominadas secuencias de resonancia magnética, que son series de gradientes magnéticos cambiantes y campos electromagnéticos oscilantes, para detectar propiedades y tipos de tejidos. En el cerebro estos tejidos son fundamentalmente la sustancia gris, la sustancia blanca y el líquido cefalorraquídeo.

Las secuencias de pulsos con una determinada frecuencia son absorbidas por núcleos atómicos presentes en los tejidos de interés. Estas frecuencias son específicas para cada núcleo atómico. Dado que el hidrógeno es el núcleo más común en el cuerpo humano, las frecuencias de los pulsos se ajustan para este núcleo formado por un solo protón. Después de la absorción, los protones emiten la energía electromagnética que han captado, a la que se denomina señal. La intensidad de la señal depende de la concentración de estos núcleos en el tejido y de las propiedades magnéticas del mismo. En consecuencia, si los distintos tipos de tejidos se diferencian en la concentración de los núcleos de hidrógeno, la energía electromagnética emitida por cada tejido será diferente, lo que nos permitirá diferenciarlos. Sin embargo, otro aspecto importante en la formación de estas imágenes es cómo se establece la localización espacial de estos tejidos en las propias imágenes de RM.

La localización espacial en una imagen de RM de los tejidos cerebrales se establece en unidades llamadas vóxeles, de la misma forma que estableceríamos la localización espacial en una imagen digital en píxeles. Así pues, un vóxel es una unidad de volumen, en consecuencia, con tres dimensiones ( $x$ ,  $y$ ,  $z$ ). El tamaño de los vóxeles en cada dimensión determinará la resolución espacial de nuestras imágenes de RM. Cuanto más pequeños sean los vóxeles que componen una imagen, mayor será la posibilidad de delimitar estructuras más pequeñas en el cerebro. Sin embargo, la señal obtenida en cada vóxel tiene una variabilidad intrínseca independiente del tejido y propia del método de medida que se denomina ruido. En consecuencia, la imagen de RM en general y para cada vóxel en particular, no es una medida absoluta de la señal emitida por un tejido, sino una medida del contraste entre la señal emitida por el tejido y el ruido añadido por el método de medida, lo que comúnmente se denomina la relación señal-ruido (definida como la magnitud de la diferencia de intensidad entre distintas cantidades de señal dividida por la variabilidad de sus medidas). Llegados a este punto, y enlazando con la primera parte de este párrafo, la relación señal ruido es mayor cuanto mayor es el tamaño del vóxel, lo que explica la no utilización de vóxeles con una resolución espacial elevada, que a su vez depende de otras propiedades y partes del escáner de RM (el electroimán es una de las partes del escáner).

La explicación dinámica de la obtención de la señal de resonancia se puede resumir en los siguientes pasos:

1. El electroimán genera un campo magnético que alinea los protones de hidrógeno en una determinada dirección.
2. La aplicación de secuencias de pulsos de una determinada frecuencia (también llamados pulsos de radiofrecuencia) cambia la orientación de los protones de hidrógeno a un ángulo determinado.
3. La interrupción del pulso hace que los protones de hidrógeno retornen a su posición original (la determinada por el electroimán).
4. Al volver a su posición original los protones liberan energía, que es captada por un receptor y transformada en imágenes. Las imágenes se forman por ordenador de acuerdo a la posición de cada vóxel y la señal proveniente de cada uno de ellos.

En resumen, estos principios nos permiten obtener imágenes de la estructura del cerebro a las que denominamos imágenes de **Resonancia Magnética estructural (IRMe)**, las cuales nos dan una información anatómica del cerebro.

### 2.4.2. Resonancia Magnética funcional

La RM nos permite realizar estudios de la estructura cerebral, como se ha explicado anteriormente. La RMe nos permite obtener representaciones estáticas del cerebro. Por otro lado, la RM también nos permite estudiar cambios fisiológicos a corto plazo relacionados con el funcionamiento cerebral, lo que implica la visualización de cambios dinámicos funcionales. La aplicación de la RM al estudio de los cambios funcionales del cerebro a lo largo del tiempo se denomina **Resonancia Magnética funcional (RMf)**.

La principal característica de las imágenes obtenidas para el estudio de la estructura cerebral mediante RM era la resolución espacial, descrita anteriormente. El estudio del funcionamiento del cerebro mediante RM introduce como variable importante la resolución temporal. La resolución temporal establece la velocidad a la que se pueden registrar los cambios fisiológicos relacionados con el funcionamiento cerebral. Esta resolución depende de la tasa de muestreo. La tasa de muestreo es la frecuencia con la que una medida de la señal es realizada en el tiempo. La tasa de muestreo en RMf suele oscilar entre 2 y 4 segundos, es decir, las mediciones de los cambios fisiológicos son realizadas cada 2 o 4 segundos, siendo el mismo a lo largo de todo el proceso de adquisición (TR, tiempo de repetición).

Los cambios fisiológicos registrados mediante RMf están relacionados con cambios funcionales de una región cerebral. En sí, los cambios fisiológicos medidos en RMf son las variaciones o cambios en la cantidad de desoxihemoglobina (hemoglobina sin oxígeno) en la sangre [68]. Mientras que los cambios funcionales se definen como la intensidad y variación de los cambios de oxigenación de la sangre en una región cerebral relacionados con la respuesta neuronal durante la realización de una determinada función o tarea cognitiva (p.e. codificación en memoria, tarea motora, respuesta emocional, etc) y también en ausencia de tarea, recogiendo la actividad mental espontánea de baja frecuencia conocida como estado de reposo (o “Resting-state”, en inglés). Así, una región cerebral es considerada como implicada en una función cognitiva dependiendo de la magnitud del cambio de señal asociado a la concentración de desoxihemoglobina.

La señal procedente del cambio fisiológico relacionado con la desoxihemoglobina se basa en las propiedades magnéticas de la hemoglobina cuando va o no ligada a oxígeno, denominada oxihemoglobina (Hb) y desoxihemoglobina (dHb), respectivamente. La oxihemoglobina es diamagnética y la desoxihemoglobina es paramagnética. Los cambios en concentración de dHb en relación a Hb son los que generan el contraste adquirido en término de señal en las secuencias de RMf, y denominado contraste Dependiente del Nivel de Oxigenación de la Sangre (del inglés: Blood Oxygenation Level Dependent contrast o BOLD contrast). La Hb genera más señal de resonancia y la dHb genera una señal reducida. En consecuencia, la señal obtenida en resonancia es un contraste producido por la reducción de señal en aquellas áreas donde la concentración de dHb se ve incrementada, es decir, es un incremento en sentido negativo de la señal.

### 2.4.3. Paradigma

La señal procedente del cambio cognitivo relacionado con la oxigenación de la sangre y medida mediante RMf es una medida indirecta de la respuesta neuronal. La activación neuronal produce un incremento del consumo de oxígeno en aquellas neuronas activas durante la realización de una tarea cognitiva. La correcta distinción de aquellas áreas elocuentes para la realización de una determinada tarea cognitiva es dependiente del diseño experimental. Es necesario volver a señalar que la señal es una medida relativa, no absoluta, resultado del contraste BOLD en la RMf. La importancia de este hecho se aplica directamente a los diseños experimentales, basados en el método sustractivo de Donders (1868) [69]. El principio básico del método sustractivo de Donders aplicado a RM nos lleva a la necesidad de establecer una línea base, que en RMf se denomina como condición de control. Además, el diseño incluirá una condición experimental que permita estudiar el proceso cognitivo o función de interés. La sustracción o resta de la activación durante la condición de control, de la activación durante la condición experimental debe representar en activaciones funcionales las áreas cerebrales implicadas en nuestro proceso cognitivo de interés. Así mismo, una tarea de activación puede implicar una suma de procesos cognitivos, más aquel de nuestro interés. Por lo tanto una buena tarea de control debe incluir todos los procesos cognitivos menos nuestro proceso de interés. De otra forma, no sabríamos si la activación funcional es específica de nuestro estudio.

La activación neuronal produce unas demandas metabólicas en el consumo de oxígeno, y el consumo de oxígeno es lo que es medido mediante RMf. La señal obtenida en RMf de acuerdo al consumo metabólico de oxígeno es denominada respuesta hemodinámica (o HDR; del inglés Hemodynamic Response). La respuesta neuronal se produce en milisegundos. Sin embargo, los primeros cambios hemodinámicos no se observan hasta 1 o 2 segundos después. Recordemos en este punto que la señal BOLD que observamos en cada vóxel refleja la reducción de la distorsión del campo magnético asociada a la cantidad total de dHb que está presente, así como el ruido proveniente de distintas fuentes. La HDR comienza con una reducción de la señal producida por el incremento de dHb durante 1 o 2 segundos. Posteriormente, la demanda de oxígeno genera una regulación del flujo sanguíneo cerebral que incrementa la concentración de Hb. El incremento de Hb no es proporcional al consumo de oxígeno neuronal, por lo que se produce una reducción en la cantidad de dHb en una región, o en particular para un determinado vóxel. El incremento máximo de amplitud de HDR o pico se alcanza a los 5 segundos posteriores al retorno a la línea base después del decremento inicial durante 1 o 2 segundos tras la presentación de un estímulo. Posteriormente, la HDR se reduce progresivamente alcanzando niveles inferiores a la línea base, como al comienzo, para regresar lentamente a la misma, es decir, a niveles normales.

En resumen, la medida o variable dependiente estudiada en RMf es la HDR cerebral traducida en intensidades de señal por los principios de RM y las propiedades magnéticas de la hemoglobina. Estas medidas se realizan en distintas partes del cerebro prácticamente al mismo tiempo. La unidad de medida es el vóxel de tres dimensiones por ser una medida de un volumen, y a la que en RMf tendremos que añadir una cuarta dimensión, el tiempo. El tiempo está en función de en qué momento se ha tomado esa medición durante el curso temporal de una tarea cognitiva. Finalmente, el estudio de las diferencias en la señal incluida en cada vóxel durante la realización de una condición control y otra experimental nos informará sobre las áreas cerebrales implicadas en una tarea cognitiva. La explicación así dada puede resultar compleja y al mismo tiempo es demasiado escueta para comprender las propiedades de algo tan importante como la medida de la variable dependiente en estudios realizados mediante RMf, es decir, el contraste BOLD.

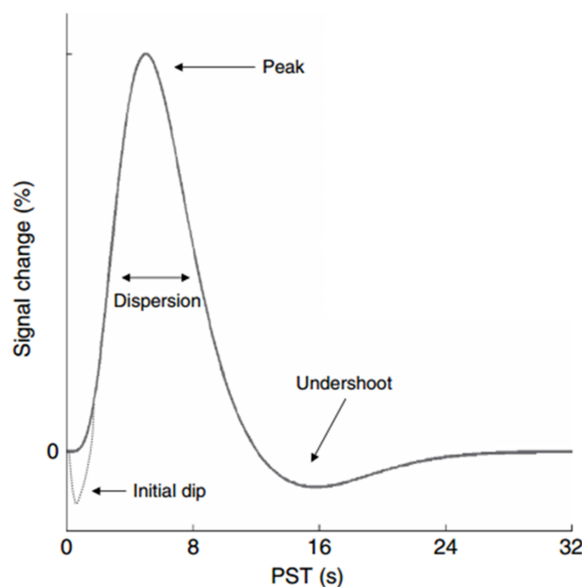


Figura 2.4: Función de la respuesta hemodinámica (HRF). Figura extraída de [70]

**Diseños experimentales.** Existen dos principales aproximaciones para los diseños experimentales de RMf, dependiendo de la presentación de los estímulos, que detallaremos en las siguientes secciones. El primero es el **diseño de bloques**, este ha sido el más utilizado en el diseño de tareas experimentales. El segundo, es el llamado **diseño relacionado con eventos**, el cual surge de estudios de neuroimagen funcional, en particular de los potenciales evocados. Basándonos en las ventajas que aportan cada uno de estos diseños, recientemente se han empezado a utilizar los denominados **diseños mixtos**, los cuales combinan los aspectos de diseños de bloques y los de eventos. Y por último, se encuentran los **diseños de “sparse sampling”**, estos diseños son similares a los diseños de bloques, con la particularidad de que la adquisición entre las imágenes cerebrales está separada por pequeños retardos de escáner, proporcionando así silencios para la presentación de los estímulos. Estos diseños son implementados con el objetivo de la reducción del ruido del escáner en los paradigmas auditivos.

#### 2.4.3.1. Diseño de bloques

Los diseños de bloques tradicionalmente han sido los más utilizados en los experimentos debido a las limitaciones en resolución temporal de la RMf. Los diseños de bloques se basan en períodos (o bloques) de control alternados con períodos de tarea, así se consigue obtener la suficiente cantidad de datos para realizar un análisis estadístico factible. Estos diseños son fáciles de llevar a cabo y tienen un gran poder de localización del nivel de actividad BOLD significativa en los vóxeles involucrados en la condición de tarea, comparada con la de control. Como hemos comentado anteriormente, al realizar la presentación de los estímulos la señal (HDR) sube gradualmente hasta llegar a un pico, y después vuelve a la línea base en la ausencia de estímulo. Pero en estos diseños la respuesta neuronal es mantenida durante la duración de un bloque experimental, por lo que el pico se extiende en forma de meseta (la HDR en los vóxeles activados se acumula) durante el bloque, dependiendo de su duración [68], y decae volviendo a

su línea base en la ausencia de los estímulos, es decir, durante los bloques de control). Notar que los vóxels que no se activan no muestran incremento en la señal durante la condición de tarea, comparado con la condición de control (ver Fig. 2.5A).

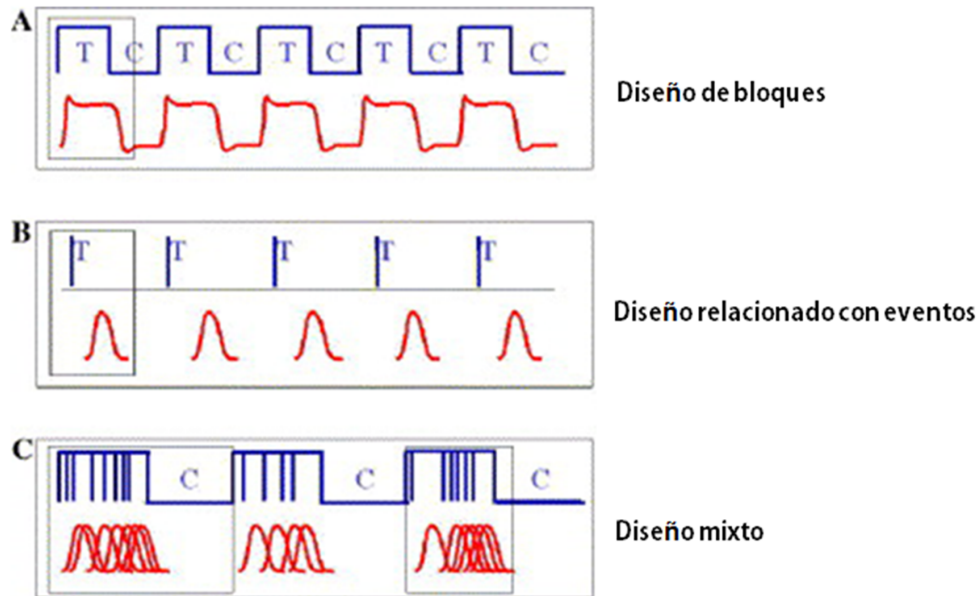


Figura 2.5: Presentación de estímulos en paradigmas de RMf [71]. (A) Diseño de bloques, los estímulos de una misma condición (T: tarea, C: control) se presentan de manera conjunta en bloques alternando las condiciones; la señal BOLD es compuesta por respuestas hemodinámica individuales de cada estímulo, y generalmente con una magnitud alta. (B) Diseño relacionado con eventos, la respuesta hemodinámica es detectada para cada estímulo. (C) Diseño mixto, una combinación diseño de bloques y presentación estímulos por de eventos. Figura extraída y modificada de [72].

#### 2.4.3.2. Diseño de eventos

En los diseños relacionados con eventos, los estímulos de la tarea se presentan de manera independiente separados por un intervalo interestimular (ISI, son sus siglas en inglés), el cual puede ser aleatorio o pseudoaleatorio dentro del experimento. Con lo cual, en lugar de presentar los estímulos en períodos de tiempo continuo para cada condición (tarea, control) como teníamos en el diseño de bloques, para un diseño relacionado con eventos el estímulo se presentará solo una vez en un corto periodo de tiempo, seguido por el mismo u otro estímulo con un intervalo de tiempo entre ellos (ISI) y con un intervalo entre ensayos (ITI siglas en inglés) (ver Fig.2.5B).

A diferencia con el diseño de bloques donde los estímulos en un bloque son fijos y los estímulos a través de los bloques pueden ser alternados, los estímulos en diseños relacionados con eventos se pueden presentar de forma aleatoria o pseudoaleatoria. Por lo tanto, si el ISI es suficientemente largo, permitirá que la activación neural de un estímulo vuelva a la línea base, permitiendo observar como se comporta la HDR (curso temporal de la actividad) en un vóxel. Por esta razón,



los diseños relacionados con eventos son más efectivos para la estimación de la función de la respuesta hemodinámica (HRF; hemodynamic response function). Pero con cortos y constantes períodos de ISI hay un decremento de la información (contraste funcional) comparado con los diseños de bloques [73]. La elección del ISI para estos diseños es una cuestión complicada, varios estudios han mostrado diferentes y contradictorios resultados dependiendo del ISI utilizado [74, 75, 76, 77, 78]. Otra de las posibles ventajas de los análisis de estos diseños, es la separación de eventos dependiendo de la respuesta (es decir, eventos en los que el sujeto responde correctamente comparado con eventos a los que responde de manera errónea). Notar que aunque estos diseños resultan más flexibles, sus análisis estadísticos son frecuentemente más difíciles.

#### 2.4.3.3. Diseños Mixtos

Los diseños mixtos [79], son diseños en los que se combinan diseños de bloques y diseños relacionados con eventos. En estos diseños los bloques de la tarea se van alternando con los bloques de la condición control, al igual que se hace en los diseños de bloques. Sin embargo, dentro de cada bloque de tarea, los estímulos son asignados de manera aleatoria (ISI variable), como en los diseños relacionados con eventos. La ventaja de estos diseños es permitir la separación de la actividad transitoria, relacionada con la presentación del estímulo, dentro de la actividad sostenida, que se lleva a cabo a través de la tarea y el estímulo (ver Fig.2.5C).

#### 2.4.3.4. Diseños “Sparse Sampling”

Los diseños “sparse sampling” tienen como objetivo la reducción de la interferencia del ruido intravolumen en la actividad auditiva cerebral [80]. El ruido del escáner destaca particularmente por ser un componente cognitivo adicional que puede ser añadido a la respuesta neural de la tarea sin tener efectos reales en el procesamiento cognitivo (“Pure insertion”, en inglés). Por lo tanto, la optimización de un paradigma puede ayudar a reducir el ruido del escáner, particularmente en las medidas de respuesta auditiva. Debemos tener en cuenta que la respuesta auditiva asociada al escáner se puede caracterizar como interferencia a la respuesta auditiva inducida por el estímulo debido a causas temporales, es decir, el ruido del escáner asociado a la adquisición de un volumen cerebral puede inducir activación en uno de los cortes del volumen que cubre el córtex auditivo, y este ruido se recogerá a lo largo de todo el paradigma.

Para reducir el impacto del ruido del escáner en la activación auditiva utilizaremos los diseños de “sparse sampling”. Éstos diseños se caracterizan por la adquisición de un único volumen durante un periodo temporal (tiempo de adquisición [TA]) posterior a unos segundos de silencio (“delay”, el escáner no adquiere imágenes de RMf), donde se presenta el estímulo auditivo (ver Figura 2.6). En este caso, el TR engloba el tiempo del TA y del “delay” en el muestreo de los datos. Este diseño busca adquirir imágenes cerca de la máxima y mínima de la HDR, ya que la imagen del córtex auditivo en estos dos puntos temporales mejoran la detección de la señal.

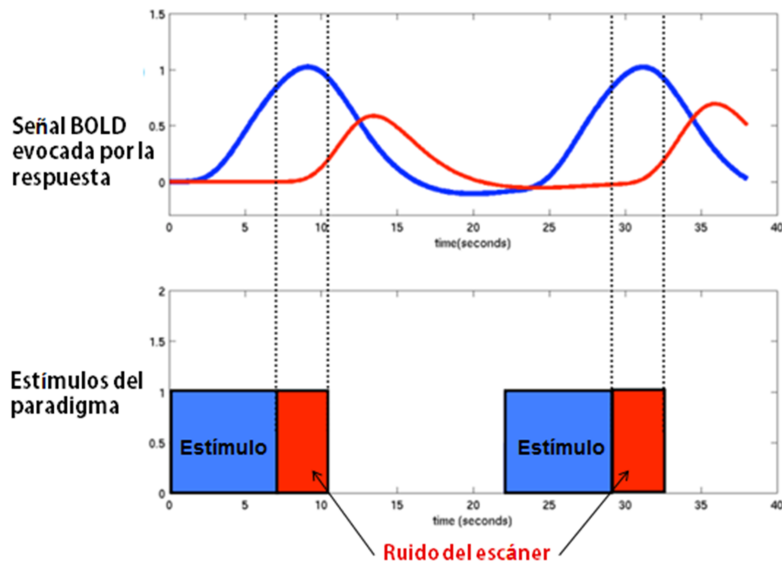


Figura 2.6: Paradigma experimental con diseño “Sparse Sampling”. Los estímulos son presentados en ausencia de ruido del escáner, eliminando la respuesta hemodinámica auditiva evocada del ruido (rojo) y adquiriendo únicamente la respuesta hemodinámica evocada del estímulo (azul). Figura extraída y modificada de <http://joedevlin.psychol.ucl.ac.uk/teaching/Wk3advanced.pdf>.

#### 2.4.4. Análisis estadísticos de RMf basado en tarea

Una de las características de las imágenes de RMf es que son datos muy ruidosos. El ruido de los datos de las imágenes de RMf puede ser debido a propiedades del escáner (ruido térmico o ruido del sistema) y ruido relacionado con la tarea y/o sujeto:

**Ruido térmico** relacionado con la intensidad de la señal de RM en el transcurso temporal de adquisición de las imágenes, debido a un incremento en la temperatura del sistema. Este ruido es aleatorio y no se ve relacionado con la tarea experimental, además sus efectos pueden ser reducidos mediante el promedio de los datos, por lo que no se supondrá importante para el análisis de los datos.

**Ruido del sistema** es introducido por las fluctuaciones en el funcionamiento del hardware de RM (inhomogeneidades en el campo magnético estático e inestabilidades en los gradientes de campo magnético). Un ruido importante del sistema son las fluctuaciones de campo (drift) en la señal, por el cual a lo largo del experimento la intensidad de la señal en un vóxel dado cambia de manera gradual y sistemática (ruido denominado como “signal drift”).

**Ruido relacionado con el sujeto y/o tarea** viene dado por el movimiento del sujeto dentro del escáner. Si un sujeto se mueve, la activación de un vóxel será contaminada con la activación de los vóxeles vecinos. Dado que la resolución espacial de los vóxeles de las imágenes de RMf son normalmente entre 1 y 3 mm (por lado), incluso un pequeño movimiento puede tener efecto importante en la señal. El movimiento de la cabeza es una de las principales

fuentes de ruido en los datos de RMf, dado que las sesiones de escáner pueden ser muy largas (hasta 1 hora). Por lo tanto, en los casos en los que existe mucho movimiento, los datos son frecuentemente eliminados. Además, también puede ocurrir que el movimiento esté relacionado con la tarea experimental [81, 82].

Claramente no todos los tipos de ruido pueden ser eliminados, pero antes de realizar cualquier análisis estadístico es necesario estimar y eliminar las diferentes fuentes de ruido de los datos, este proceso se conoce como *preprocesado*.

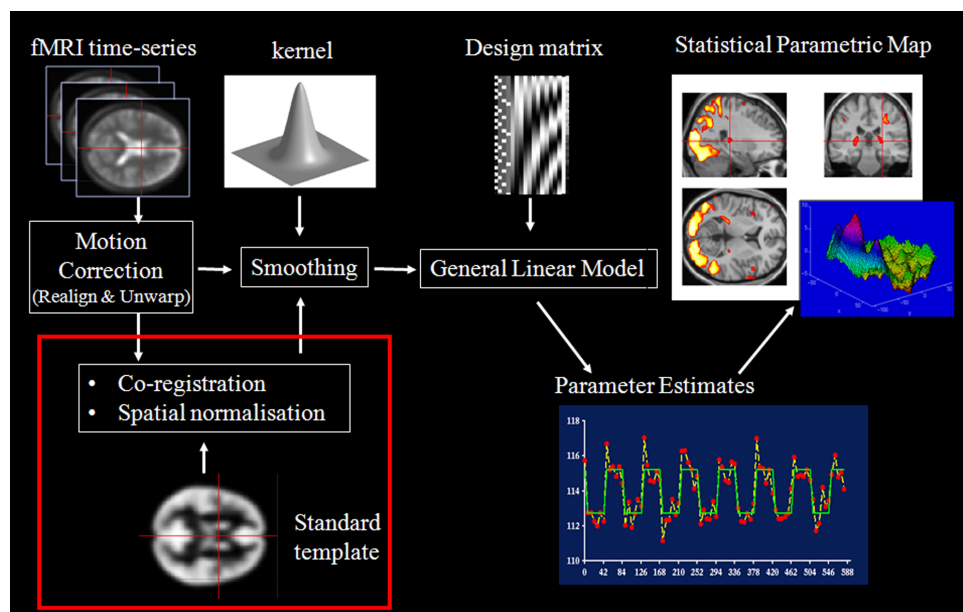


Figura 2.7: Visión general de la herramienta de análisis de imagen cerebral SPM. SPM viene de *Statistical Parametric Mapping* que se refiere a la construcción y evaluación de los procesos estadísticos con extensión espacial utilizados para probar las hipótesis acerca de los datos de imagen de RMf. Figura extraída de [www.fil.ion.ucl.ac.uk/mfd/page1/page1.html](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/mfd/page1/page1.html).

#### 2.4.4.1. Preprocesado de las imágenes de RMf

El preprocesado de las imágenes de RM es el proceso de limpieza de los datos anterior al análisis estadístico. Existen diferentes programas para la realización del procesamiento de las imágenes de RMf. En esta tesis nos centraremos en la herramienta *Statistical Parametric Mapping* (SPM; Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK) (ver Fig2.7). Hay que tener también en cuenta que dentro del módulo del preprocesado del programa, en este caso del SPM, existen distintos procesos y parámetros para la limpieza de las imágenes de RMf, aunque existen aspectos comunes como es la corrección de movimiento. También introduciremos en el preprocesado de las imágenes de RMf, procesos para poder realizar análisis de comparación de grupos de sujetos (normalización espacial). A continuación, detallaremos los diferentes pasos de preprocesado aplicables a las imágenes de RMf:

**Corrección "Slice timing"** Corrige el hecho de que los cortes de un volumen sean adquiridos cada uno en un tiempo, dentro del periodo de adquisición de cada volumen (TR), en lugar de

ser adquiridos todos en un único momento temporal. Aunque todavía hay algunos análisis de datos que asumen que los datos han sido adquiridos al mismo tiempo, lo más lógico es aplicar esta corrección. Teniendo en cuenta que los datos pueden ser adquiridos, bien de manera intercalada (primero los cortes pares y luego los impares [ascendente] o al revés [descendente]) o de manera secuencial, podemos asumir claramente que el muestreo de los vóxeles en un volumen se lleva a cabo en distinto tiempo (según el TR, que como hemos dicho anteriormente, varía entre 2 y 4 segundos). Se debe aclarar que esta corrección se utiliza para diseños relacionados con eventos y que cambia la fase del curso temporal de los vóxeles en cada corte, proporcionando unos datos como si se hubieran adquirido exactamente en el mismo tiempo [83].

**Corrección de movimiento** Como ya hemos comentado, el movimiento del sujeto dentro del escáner es uno de los ruidos más importantes a tener en cuenta antes de la realización del análisis estadístico. Este procedimiento se basa en un realineamiento de las imágenes de un mismo sujeto usando la aproximación de mínimos cuadrados y una transformación espacial de 6 parámetros (“rigid body”, 3 parámetros de traslación y 3 de rotación), es decir, en la idea de que el cerebro no cambia de forma, solo varía su posición y orientación. La primera imagen es usada como referencia para realinear todas las siguientes. Un segundo proceso es frecuentemente utilizado para registrar las imágenes a la media (“mean image”) después del primer realineamiento. La realización de este segundo proceso es más preciso para los siguientes pasos de preproceso, aunque no suele mejorar demasiado los resultados.

**Normalización espacial** La normalización espacial se realiza para transformar imágenes de RMf de un sujeto a un espacio estereotáxico estándar definido por algún modelo ideal o una plantilla (“template”, en inglés) para que diferentes sujetos puedan ser directamente comparados, facilitando el promedio inter-sujeto, precisando la caracterización de la anatomía funcional (coordenadas en un espacio estándar) y aumentando la potencia estadística (Fig.2.8A). Las plantillas proporcionadas por el SPM se ajustan al espacio MNI (Montreal Neurological Institute) definido por ICBM, proyecto NIH P-20, aproximado al atlas de Talairach and Tournoux (1988) [84]. Es decir, el objetivo es establecer una correspondencia funcional vóxel a vóxel, entre cerebros de diferentes sujetos. Este proceso no puede ser realizado únicamente con transformaciones “rigid body”, ya que las imágenes cerebrales entre sujetos difieren fundamentalmente en forma. La aproximación que utiliza el SPM es una normalización basada en intensidad, la cual identifica una transformación espacial que minimiza las diferencias entre la imagen a normalizar y la imagen de referencia (template), mediante un registro de mínimos cuadrados. El primer paso de la normalización es determinar los 12 parámetros para una transformación afín óptima, consiguiendo con esto que la cabeza del sujeto a normalizar quede ajustada a la plantilla en tamaño, posición y forma (Fig.2.8B). Después del registro afín, las imágenes normalizadas son construidas mediante un mapa de deformaciones no lineales creado mediante un modelo de campo de deformaciones (combinación lineal de funciones base de baja frecuencia periódicas). El SPM usa la función base de la transformada discreta del coseno (DCT) (ver Fig.2.8C). El método de optimización tiene como último paso la utilización de la estadística bayesiana para obtener un ajuste más robusto. Esto requiere el conocimiento de los errores asociados a las estimaciones de los parámetros, así como el conocimiento de la distribución a priori del campo de deformaciones.

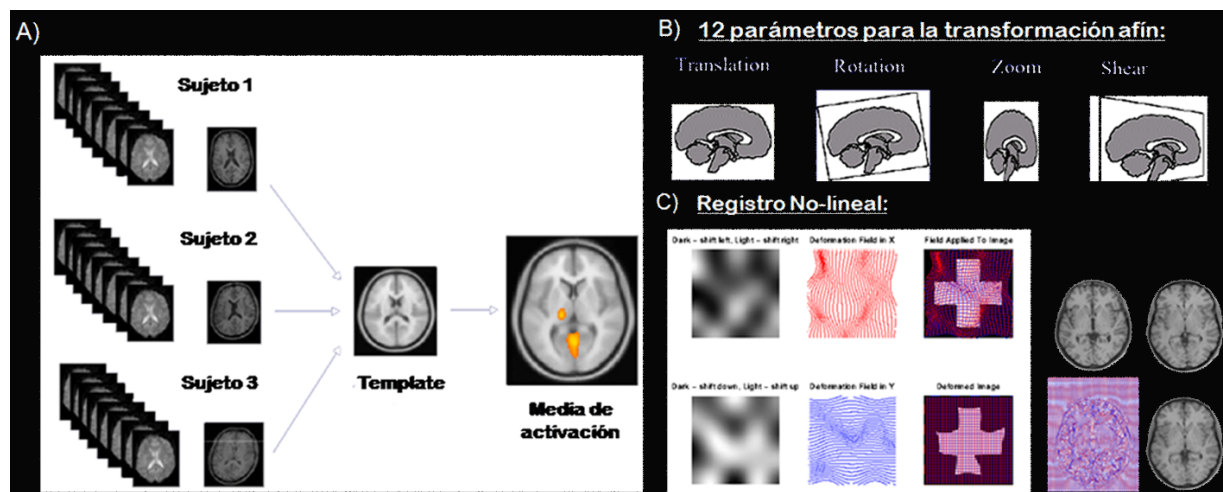


Figura 2.8: **Normalización espacial.** A) Registro de las imágenes de diferentes participantes al mismo sistema de coordenadas (donde el sistema de coordenadas es definido por una imagen "template"). El procedimiento adoptado por SPM se basa en dos fases para determinar una transformación que minimice la suma de diferencias al cuadrado entre imágenes: B) Transformación lineal (12-parámetros afín), para elegir el tamaño y posición de las imágenes, y conseguir así que las imágenes tengan la misma forma y tamaño. C) Transformación no lineal (warping), se trata de deformar la imagen mediante una combinación lineal de las funciones base utilizadas en el suavizado en este caso la transformada discreta del coseno (DCT). Figura extraída y modificada de [www.fil.ion.ucl.ac.uk/mfd/page1/page1.html](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/mfd/page1/page1.html).

**Suavizado espacial** Mejora la relación señal ruido incrementando así la sensibilidad, ya que los efectos del suavizado difuminan la señal entre los vóxeles vecinos y permite una mejor superposición espacial entre los sujetos; y mejora la calidad de los datos para el análisis estadístico haciendo los datos más "normales". La aproximación que utiliza el SPM para el suavizado espacial es el filtro Gaussiano, mediante la medida conocida como "full width half maximum" (FWHM)(Fig.2.9). La desventaja del suavizado espacial es la correcta elección del filtro. Si el filtro que se elige es más grande que la región que se quiere localizar (regiones pequeñas como por ejemplo la amígdala), la activación será suavizada y por lo tanto, no se podrá detectar. Y si por el contrario, el filtro es demasiado pequeño, la relación señal ruido no mejorará y la resolución espacial será degradada.

Hay que tener en cuenta que el suavizado puede causar que regiones que son funcionalmente diferentes se fusionen, y esto cambiaría la naturaleza de las correlaciones espaciales entre vóxeles. Por esta razón, se utilizan diferentes filtros dependiendo de los análisis que se quieran llevar a cabo.

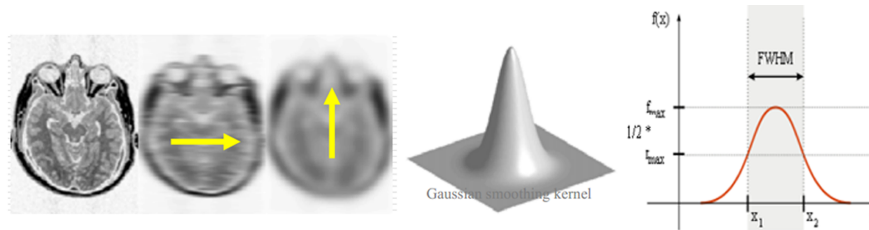


Figura 2.9: **Suavizado espacial.** El suavizado viene dado por una convolución, que se realiza mediante un filtro Gaussiano, el cual viene especificado por la anchura del núcleo (FWHM) en mm. El propósito del suavizado espacial es el de aumentar la ratio señal-ruido, en otras palabras: incrementar la potencia estadística. Figura extraída y modificada de [www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/mfd/2010/page1/page1.html](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/mfd/2010/page1/page1.html).

#### 2.4.4.2. Modelo Lineal General

El análisis estadístico clásico de los datos de RMf está basado en el Modelo Lineal General (MLG). Este análisis comprende tres pasos: la especificación del modelo, la estimación de los parámetros y la inferencia estadística. La especificación del modelo con una ecuación, o con la matriz de diseño, es un paso fundamental para los análisis de las imágenes de RMf. En SPM el análisis se realiza vóxel a vóxel (aproximación “mass-univariate”), es decir, el mismo modelo se utiliza para cada vóxel del cerebro. Para la realización de los análisis mediante el MLG, asumimos que los datos ya han sido preprocesados.

**Especificación del modelo.** Definimos la ecuación del MLG para los análisis de imágenes de RMf, luego suponemos que realizamos un experimento en el que medimos  $Y_j$  como *variable observada* (señal BOLD para un vóxel particular), donde  $j = 1, \dots, J$  son las observaciones, siendo  $Y_j$  una variable aleatoria. Suponemos también que para cada observación tenemos un conjunto de  $L$  ( $L < j$ ) *variables independientes* denotadas como  $x_{jl}$ , siendo  $l = 1, \dots, L$ . Las variables independientes pueden ser covariables continuas (o en algunas ocasiones pueden ser discretas), funciones de covariables, o variables “dummy” indicando los niveles de un factor experimental. El MLG explica la variable observada  $Y_j$  en términos de una combinación lineal de las variables independientes más un término de error  $\epsilon_j$ , donde  $\epsilon_j \sim N(0, \sigma^2)$  *iid*.

$$Y_j = x_{j1}\beta_1 + \dots + x_{jl}\beta_l + \dots + x_{jL}\beta_L + \epsilon_j \quad (2.1)$$

Los parámetros  $\beta_l$ , son parámetros desconocidos correspondientes a cada una de las  $L$  variables independientes  $x_{jl}$ . Esto es equivalente a la forma matricial:

$$Y = X\beta + \epsilon \quad (2.2)$$

donde  $Y$  es el vector columna de observaciones,  $\epsilon$  el vector columna de término de error, y  $\beta$  el vector columna de parámetros. La matriz  $X$  de dimensiones  $J \times L$  es la *matriz de diseño*, donde cada fila de la matriz de diseño corresponde a una observación y cada columna a un parámetro del modelo. Esta matriz de diseño es la descripción completa más cercana de nuestro modelo, el resto de suposiciones sobre el modelo queda recogido en el error. La matriz de diseño codifica y cuantifica nuestro conocimiento sobre cómo se produce la señal esperada.

Se debe de tener en cuenta que si los datos no pueden ser modelados por una combinación lineal de predictores en  $X$ , entonces el modelo no es apropiado y los resultados estadísticos son difíciles de interpretar. Esto ocurre si,  $X$  no contiene todos los efectos que influyen en los datos observados, si el modelo contiene demasiados predictores que no son relativos a los datos, o si la relación lineal que se asume entre los predictores y los datos no se cumple (Ec. 2.2).

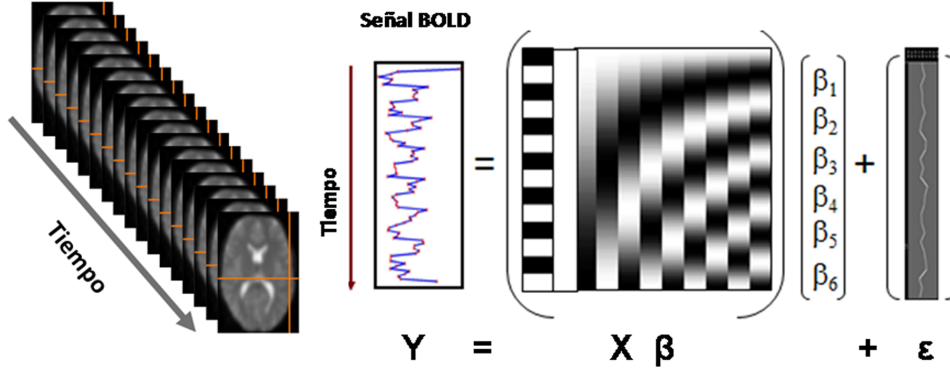


Figura 2.10: **Representación del Modelo lineal general (MLG)** para un vóxel analizado a través de diferentes puntos temporales. Siendo,  $\mathbf{Y}$  la señal BOLD para cada punto temporal del vóxel dado,  $\mathbf{X}$  la matriz de diseño en la que introducimos los componentes que explican los datos observados, es decir, los diferentes vectores que nos indican los volúmenes donde empieza la tarea de activación y la tarea de control, y su duración. En la matriz de diseño también se pueden introducir covariables de no interés, como por ejemplo los parámetros de ruido, para explicar su varianza en el modelo.  $\beta$  son los parámetros que definen la contribución específica de cada componente de la matriz de diseño  $\mathbf{X}$  sobre la matriz de observación  $\mathbf{Y}$ , y  $\epsilon$  el error. Figura extraída y modificada de [www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/mfd/2010/page1/page1.html](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/mfd/2010/page1/page1.html).

**Estimación de los parámetros.** Una vez especificado el modelo del experimento, los parámetros serán estimados utilizando el método de *mínimos cuadrados ordinarios*.

Denotamos el conjunto de parámetros a estimar como  $\tilde{\beta} = [\tilde{\beta}_1, \dots, \tilde{\beta}_L]^T$ . Estos parámetros producen los *valores de ajuste*  $\tilde{Y} = [\tilde{Y}_1, \dots, \tilde{Y}_J]^T = \mathbf{X}\tilde{\beta}$ , dando los errores residuales  $e = [e_1, \dots, e_J]^T = \mathbf{Y} - \tilde{Y} = \mathbf{Y} - \mathbf{X}\tilde{\beta}$ . El residuo de la suma de cuadrados  $S = \sum_{j=1}^J e_j^2 = e^T e$  es la suma de la diferencia de cuadrados entre los valores reales y los ajustados, y mide el ajuste del modelo que ofrece esta estimación de parámetros.

La estimación de mínimos cuadrados es la estimación de los parámetros que minimiza el residual de la suma de cuadrados. Luego:

$$S = \sum_{j=1}^J (Y_j - x_{j1}\tilde{\beta}_1 - \dots - x_{jL}\tilde{\beta}_L)^2 \quad (2.3)$$

Esto es minimizado cuando:

$$\frac{\partial S}{\partial \tilde{\beta}_l} = 2 \sum_{j=1}^J (-x_{jl})(Y_j - x_{j1}\tilde{\beta}_1 - \dots - x_{jL}\tilde{\beta}_L) = 0 \quad (2.4)$$

Esta ecuación es la  $l$ -ésima fila de  $X^T Y = (X^T X) \tilde{\beta}$ . De este modo, la estimación de mínimos cuadrados, denotada por  $\hat{\beta}$ , satisface la *ecuación normal*:

$$X^T Y = (X^T X) \hat{\beta} \quad (2.5)$$

Para el MLG, el estimador de mínimos cuadrados es el estimador de máxima verosimilitud, y es el mejor estimador lineal insesgado (Teorema Gauss-Markov).

Si  $(X^T X)$  es invertible, que lo es si, si y solo si, la matriz de diseño  $X$  es de rango completo, entonces la estimación por mínimos cuadrados es:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y \quad (2.6)$$

Si  $X$  tiene columnas linealmente dependientes,  $(X^T X)$  es una matriz singular y no tiene inversa. En este caso, el modelo es sobredeterminado, es decir, el sistema lineal tiene más ecuaciones que incógnitas, con lo que tenemos un número infinito de estimaciones de mínimos cuadrados  $\hat{\beta}$  que satisfacen la ecuación normal. En este caso de modelos sobredeterminados, un conjunto de estimaciones de mínimos cuadrados pueden ser encontrados imponiendo restricciones a los estimadores, o invirtiendo la matriz  $(X^T X)$  usando el método de la pseudoinversa, que básicamente implica una restricción. En cualquier caso, es importante recordar que los estimadores obtenidos dependen de la restricción o método de pseudoinversa elegido. Notar que esto tiene implicaciones sobre la inferencia, solo tiene sentido considerar las funciones de los parámetros que no son influenciadas por la restricción elegida.

En particular, SPM adopta la aproximación mediante el método de la pseudoinversa para los estimadores de los parámetros. Sea  $(X^T X)^-$  la *matriz pseudoinversa* o *matriz inversa de Moore-Penrose* de  $(X^T X)$ , entonces, podemos usar  $(X^T X)^-$  en lugar de  $(X^T X)^{-1}$  en la ecuación 2.6. Así

$$\hat{\beta} = (X^T X)^- X^T Y = X^- Y \quad (2.7)$$

Como ya hemos comentado, en los modelos sobredeterminados existen un número infinito de soluciones; sin embargo esta aproximación nos permite una estimación única sin cambiar cómo  $X$  está especificada.

**Inferencia.** En este apartado derivaremos los estadísticos  $t$  y  $F$ , que son normalmente usados para el análisis de la combinación lineal de los efectos.

Los estimadores de los parámetros son normalmente distribuidos: si  $X$  es de rango completo entonces  $\hat{\beta} \sim N(\beta, \sigma^2 (X^T X)^{-1})$ . De esto se sigue que, si  $\lambda$  es un vector columna que tiene  $L$  pesos:

$$\lambda^T \hat{\beta} \sim N(\lambda^T \beta, \sigma^2 \lambda^T (X^T X)^{-1} \lambda) \quad (2.8)$$

Además,  $\hat{\beta}$  y  $\hat{\sigma}^2$  son independientes (ley de Fisher). Así pues, las hipótesis preespecificadas relacionadas con los componentes lineales de los parámetros del modelo  $\lambda^T \beta$  se pueden evaluar mediante:

$$\frac{\lambda^T \hat{\beta} - \lambda^T \beta}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 \lambda^T (X^T X)^{-1} \lambda}} \sim t_{J-p} \quad (2.9)$$



donde  $t_{J-p}$  es la distribución  $t$  de Student con  $J - p$  grados de libertad, siendo  $p = \text{rango}(X)$ . Por ejemplo, la hipótesis  $H_0 : \lambda^T \beta = d$  puede ser evaluada calculando

$$T = \frac{\lambda^T \hat{\beta} - d}{\sqrt{\hat{\sigma}^2 \lambda^T (X^T X)^{-1} \lambda}} \quad (2.10)$$

y calculando el  $p$ -valor, mediante la comparación de  $T$  con la distribución  $t$  de Student con  $J - p$  grados de libertad. En SPM todas las hipótesis son de la forma  $\lambda^T \beta = 0$ . Es importante también tener en cuenta que los test en SPM basados en valores  $t$  son siempre de una cola.

En este contexto son muy importantes en la inferencia los *contrastos*. Definiremos un contraste ( $\lambda$ ) como una función estimable de los estimadores de los parámetros, es decir, diremos que un *contraste es estimable* si y solo si el vector contraste puede ser escrito como la combinación lineal de las filas de  $X$ . Esto es porque la información sobre un contraste se obtiene de la combinación de las filas de  $Y$ . Si una combinación lineal de los estimadores de los parámetros es no estimable, entonces esa combinación lineal no es un contraste. Los contrastes utilizados y su interpretación dependerán del modelo especificado y del diseño del experimento de RMf. Luego con los contrastes evaluamos los efectos de interés y realizamos la evaluación estadística de nuestras hipótesis.

Los contrastes utilizados en SPM los podemos dividir en *contrastos T* y *contrastos F*.

**Contraste T**, es una combinación lineal univariada (vector de longitud  $p$ ) de los estimadores de los parámetros. Este contraste es direccional, por ejemplo, si tenemos nuestra matriz de diseño  $X = [x_1, x_2]$ , donde  $x_1$  es la condición de activación y  $x_2$  es la condición de control, y queremos analizar en qué región cerebral existe un incremento lineal en la condición de activación, usaremos una combinación lineal de  $1\beta_1 + 0\beta_2$ , es decir, usaremos el vector de contraste  $\lambda^T = [1 \ 0]$ . Si por el contrario queremos ver en qué región cerebral hay un decrecimiento lineal de la activación usaremos  $\lambda^T = [-1 \ 0]$ . Si nos interesa analizar qué región cerebral se activa más en la condición de activación que en la condición de control usaremos la combinación de ambos parámetros  $1\beta_1 + -1\beta_2$ , usando el vector de contraste  $\lambda^T = [1 \ -1]$ , lo que se conoce como lógica sustractiva (comparación directa de dos condiciones, asumiendo que solo difieren en una propiedad, la variable independiente). El contraste de hipótesis consiste en:  $H_0 : \lambda^T \beta = 0$  ;  $H_1 : \lambda^T \beta > 0$  o  $\lambda^T \beta < 0$  o en caso de la lógica sustractiva  $H_1 : \beta_1 > \beta_2$ .

El contraste estadístico  $t$  (t-test) es una medida señal-ruido y se calcula mediante [85, 86]:

$$t_{df} = \frac{\lambda \hat{\beta}}{SD(\lambda \hat{\beta})} \quad (2.11)$$

donde,  $df$  representa los grados de libertad y  $SD(\lambda \hat{\beta})$  denota la desviación estándar de  $\lambda \hat{\beta}$ . El punto importante aquí es que la desviación estándar del contraste de estimaciones de los parámetros depende de la matriz  $X$ . Más concretamente, cuando los regresores están correlacionados entre ellos, la varianza de los correspondientes estimadores de los parámetros incrementa. En otras palabras, la estabilidad de la estimación de un componente es mayor cuando otra componente incluida en el modelo no está correlacionada.

El test de  $t_{df}$  es de una cola cuando analizamos, exclusivamente, los efectos positivos (negativos), y de dos colas cuando analizamos los efectos positivos y negativos de manera conjunta (contraste F).

**Contraste F**, es un contraste multidimensional (matriz) y no-direccional. El objetivo de usar un contraste  $F$  es identificar los vóxeles que modulan la respuesta de la tarea experimental, es decir, qué regiones cerebrales activan la condición de activación y/o la de control, para esto utilizaremos la matriz de contraste  $\lambda^T = [1 \ 0; 0 \ 1]$  (combinación de contrastes T). En otras palabras, determina si un regresor o una combinación de regresores explica una cantidad significativa de varianza en  $Y$ , y no el efecto atribuido al regresor.

El contraste de hipótesis en este caso consiste en:  $H_0 : \beta_1 = \beta_2 = 0$  ;  $H_1$  : al menos un  $\beta \neq 0$ . Y el estadístico  $F$  viene definido por  $F = \text{variabilidad explicada} / \text{error de varianza estimada}$ .

El último y más importante concepto a tener en cuenta en la inferencia estadística para obtener las activaciones de las imágenes de RMf con el MLG, son los **modelos de convolución**. El conocimiento de la forma de la HRF es importante por varias razones, pero entre otras cosas porque proporciona un mejor modelo estadístico de los datos. La HRF puede variar de vóxel a vóxel, y esto deberá tenerse en cuenta en el MLG. Así, para permitir diferentes HRFs en diferentes regiones del cerebro, Friston y cols. (1995) [87] introdujeron las *funciones base temporales* con el objetivo de modelar las respuestas evocadas en las imágenes de RMf. La idea básica de introducir las funciones base es que la respuesta hemodinámica (HDR), inducida por algún tipo de estímulo, pueda ser expresada como una combinación lineal de funciones (base) de tiempo periestimular. El modelo de convolución para las respuestas en las imágenes de RMf toma la función del estímulo dada por la respuesta neural y la convoluciona con una HRF para dar un regresor que entra en la matriz de diseño.

El MLG puede expresarse como una función de tiempo [88]:

$$\begin{aligned} y(t) &= X(t)\beta + \varepsilon(t) \\ \varepsilon(t) &\sim N(0, \sigma^2 \Sigma) \end{aligned} \quad (2.12)$$

Donde los datos,  $y(t)$  son las series temporales de las imágenes de RMf, las variables independientes  $X(t)$  son ahora funciones de tiempo,  $\beta$  los parámetros (invariantes en el tiempo), y  $\Sigma$  es el ruido de autocorrelación. Aunque  $y(t)$  y  $X(t)$  son en realidad series temporales discretas (normalmente representadas por un vector  $y$  y una matriz  $X$ , respectivamente), trataremos los datos y el modelo en términos de tiempo continuo. Por simplicidad, consideraremos el caso de un simple regresor.

Las variables independientes  $X(t)$  representan la predicción del curso temporal BOLD derivado de la actividad neuronal. Suponemos que esta actividad neuronal está causada por una secuencia de manipulación experimental y generalmente se refiere a ella como función de estímulos. Si suponemos que la señal BOLD es la señal de salida de un sistema lineal invariante en el tiempo [89], es decir, que la respuesta BOLD a un estímulo de entrada breve tiene una duración finita y es independiente del tiempo, y que las respuesta para las sucesivas entradas se superponen de forma lineal, entonces podemos expresar  $X(t)$  como la convolución de la función de estímulos con una respuesta de impulso (impulse response, en inglés), o HRF,  $h(t)$ :

$$X(t) = u(t) \otimes h(\tau) = \int_0^T u(t - \tau)h(\tau)d\tau \quad (2.13)$$

Donde los índices de  $\tau$  son el tiempo periestimular (PST, son sus siglas en inglés), sobre los que se expresa la respuesta de impulso BOLD. La función de estímulos  $u(t)$  es normalmente una

función “boxcar” (función que es cero a lo largo de toda la línea real excepto en un único intervalo donde es igual a una constante) que codifica la presencia de un evento. La figura 2.11 representa la convolución de una secuencia de eventos neuronales con la HRF canónica (ver Fig.2.4).

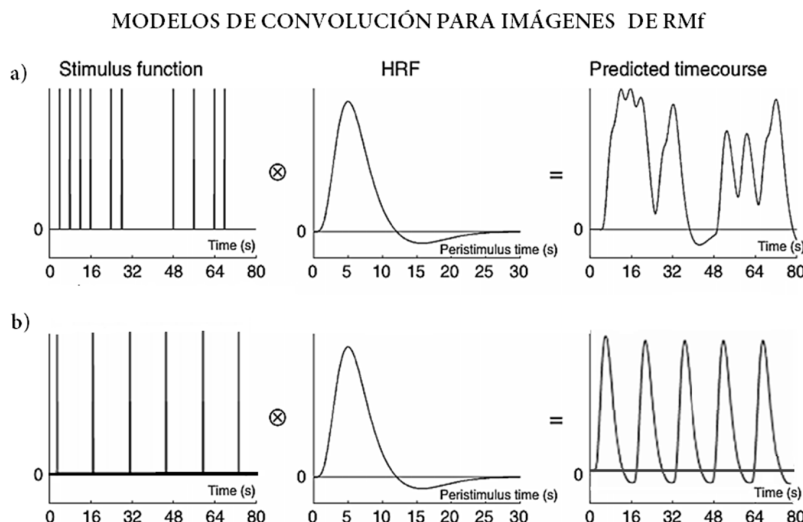


Figura 2.11: Modelos de convolución lineal con una función base HRF canónica, para la presentación de eventos a) aleatorios o b) fijos a lo largo del tiempo. Figura extraída y modificada de [70]

### 2.4.5. Estado de reposo y Conectividad Funcional

A mediados de los años 90, varios estudios sugerían que el cerebro nunca descansa. Fue Bharat Biswal en 1995 [90], quien intentando buscar el “background” de las señales de RMf para la mejora de la interpretación de las señales de las imágenes de RMf en tarea, escaneó a los participantes en estado de reposo, con la hipótesis de que se trataba de señales relacionadas con ruido. Cuando analizó estas imágenes, encontró fluctuaciones de baja frecuencia regulares, y sugirió que la actividad cerebral era la causante de estas fluctuaciones.

Los estudios de *estado de reposo* (o Resting-State, en inglés) se caracterizan por el estudio de la actividad cerebral (señal BOLD) continua existente cuando hay ausencia de estímulos externos, es decir, cuando no hacemos nada. Durante el estado de reposo, el flujo sanguíneo cerebral suele ser solo un 5-10% más bajo que durante los experimentos basados en tarea [91]. Y estudiar el cerebro en reposo nos puede ayudar a mostrar como trabaja la actividad cerebral, es decir, los cambios locales existentes en la circulación y metabolismo cerebral.

Estos estudios se basan en el hecho de que existen fluctuaciones espontáneas de baja frecuencia ( $< 0.1$  Hz) de la señal BOLD que son temporalmente sincronizadas entre regiones cerebrales funcionalmente relacionadas [92, 93, 94, 95, 96], lo que denominaremos *conectividad funcional*. El estudio de la señal BOLD en estado de reposo, es un campo emergente dentro del campo de la neuroimagen funcional ya que se ha visto que es un método altamente eficiente para el mapeo y evaluación de la arquitectura funcional del cerebro, sin necesidad de una tarea experimental

[90]. Los patrones de conectividad funcional representando la organización funcional intrínseca es lo que denominamos redes cerebrales (en inglés: Resting-State Network [RSN]) [97].

Los estudios de la actividad cerebral en estado de reposo son muy recientes y existen muchas hipótesis al respecto. El estado de reposo, podría mantener las conexiones cerebrales mientras éstas no están en uso. O podría ayudar a preparar el cerebro para responder a estímulos futuros, o a mantener la relación entre las áreas que suelen trabajar de manera conjunta para la realización de tareas. Incluso puede consolidar recuerdos o información adquiridos durante la actividad normal [98].

**Conectividad Funcional.** Como ya hemos comentamos anteriormente, la conectividad funcional es una medida de sincronización o similitud de las series temporales entre distintas regiones cerebrales. Para el análisis de la conectividad funcional existen diferentes métodos para describir las interacciones dinámicas cerebrales (dependiendo de nuestra hipótesis) entre ellos destacamos: la correlación lineal [90], análisis de componentes independientes (ICA, son sus siglas en inglés) [99], análisis clúster, clasificación de patrones y teoría de grafos, siendo los dos primeros los más utilizados. Otra categoría dentro del análisis de la conectividad funcional de los datos de RMf en el estado de reposo, se basa en la actividad local de las señal BOLD espontánea.

Antes de la aplicación de cualquiera de estos métodos a los datos de RMf en el estado de reposo, se debe de realizar un preprocesado al igual que se le aplicaba en las imágenes de RMf asociadas a tarea.

#### 2.4.5.1. Preprocesado para imágenes de RMf en estado de reposo

Las imágenes de RMf en el estado de reposo, conlleva un preprocesado adicional al ya explicado en la sección 2.4.4.1 para las imágenes de RMf relacionadas con tarea (“slice timing”, corrección del movimiento, normalización y suavizado). Este preprocesado adicional consiste en:

**Eliminación de la tendencia lineal (“detrending”)** La tendencia es el componente a largo plazo de la serie temporal. Luego los cambios fisiológicos (a largo plazo), el ruido relacionado con el movimiento restante después del realineamiento (corrección del movimiento), etc. contribuirá a un incremento o decremento en la serie temporal con respecto al tiempo, de aquí la importancia de la eliminación de esta tendencia. Al eliminar esta tendencia centramos los datos a 0 eliminando este incremento o decremento de la señal, quedándonos únicamente con los valores de la serie temporal.

**Filtro paso banda (“filtering”)** Aplicaremos el rango de frecuencia de 0.01 - 0.1 *Hz*, para reducir los efectos de fluctuación de muy bajas frecuencias (ruido del escáner) y los ruidos de altas frecuencias (ritmo cardíaco (normalmente mayor de 1Hz), respiración (aprox. 9 respiraciones/min.)).

**Eliminación de falsa varianza** Reducción de efectos debidos a artefactos fisiológicos. Para esto realizaremos una regresión lineal utilizando como covariables las máscaras de: (i) la señal media global (la cual ha sido asociada con señal de RMf inducida por la respiración), aunque su eliminación es polémica [100, 101], ya que propone que las anti-correlaciones encontradas en varios estudios son debidas a la eliminación de esta señal global, (ii) señal de sustancia blanca y (iii) señal de líquido cerebroespinal, y por último los parámetros

de movimientos adquiridos en el paso de la corrección del movimiento. Notar que, este preprocesado solo se aplicará para los análisis de correlación lineal.

### 2.4.5.2. Análisis de conectividad funcional

A continuación, describiremos las distintas metodologías utilizadas para los análisis de conectividad funcional, introduciendo las diferentes ventajas y limitaciones de cada técnica.

**Conectividad funcional basada en vóxel-semilla.** La conectividad funcional basada en vóxel-semilla está basada en la correlación de Pearson lineal entre las series temporales en una región de interés o vóxel-semilla (“seed-region”, en inglés) seleccionada a priori, y las series temporales de otra región de interés (correlación por pares, este análisis lo denotaremos como “ROI-wise”), obteniendo como resultado una matriz de correlaciones o matriz de similaridad; o la correlación lineal de el vóxel-semilla con la series temporales de cada vóxel en el cerebro entero o en una máscara predefinida (a este análisis lo denotaremos como “Voxel-wise”) obteniendo como resultado un mapa de correlación (ve Fig.2.12. Luego definimos la correlación de Pearson lineal entre dos series temporales:

$$\rho = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}, \quad (2.14)$$

donde  $\rho$  es el coeficiente de la correlación de Pearson,  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$  la media de las series temporales  $x$  e  $y$ , respectivamente, y  $n$  el número de puntos temporales.

Este método por tanto comprende dos pasos básicos, 1) la extracción de las series temporales del vóxel-semilla, y 2) Cuantificar la similaridad entre las series temporales extraídas del vóxel-semilla con otros vóxels. Por último, los coeficientes de correlación necesitan ser transformados a la distribución normal, necesario para poder realizar un análisis grupal de la muestra, esto se realizará mediante la *Transformación Z de Fisher* la cual asocia a cada medida  $\rho$  con una  $z$  correspondiente (para más detalle ver [102]):

$$z = \frac{1}{2} \ln\left(\frac{1 + \rho}{1 - \rho}\right). \quad (2.15)$$

Entonces, cada  $z$  es aproximada a una distribución normal de media

$$\bar{z} = \frac{1}{2} \left[ \ln\left(\frac{1 + \rho_{true}}{1 - \rho_{true}}\right) + \frac{\rho_{true}}{N - 1} \right], \quad (2.16)$$

donde  $\rho_{true}$  es el valor poblacional o real del coeficiente de correlación y  $N$  el tamaño de la muestra, y con una desviación estándar

$$\sigma(z) \approx \frac{1}{\sqrt{N - 3}}. \quad (2.17)$$

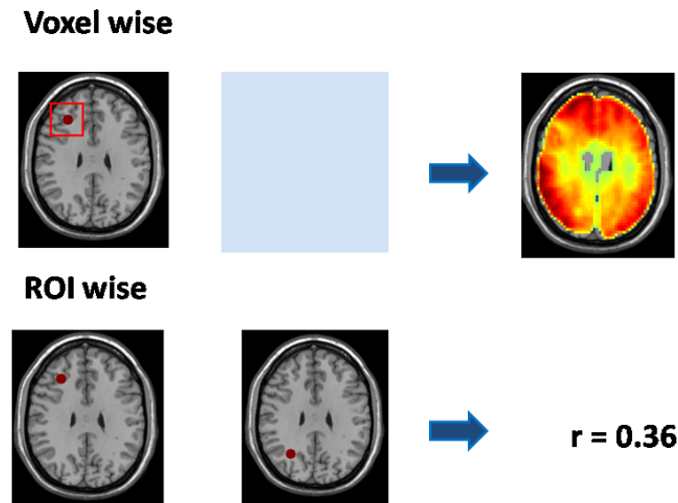


Figura 2.12: El análisis basado en voxel-semilla, proporciona dos caminos para el cálculo de la conectividad funcional: **Vóxel-wise**, calcula un mapa de conectividad funcional espacial de la region de interés elegida o voxel-semilla, al que llamaremos FC-map, en este análisis el voxel-semilla se correlaciona voxel a voxel a través del todo el cerebro. Mientras que el **Roi-wise** realiza una correlación dos a dos entre los diferentes voxel-semilla elegidos a priori, obteniendo su coeficiente de correlación. Figura extraída de [www.restfmri.net/forum/Course](http://www.restfmri.net/forum/Course).

La principal ventaja de esta técnica respecto a otros métodos es que este enfoque proporciona una respuesta directa a una pregunta directa: ¿qué regiones de la red están más vinculadas funcionalmente al voxel-semilla?. Pero tiene una limitación considerable, la selección de la región a priori, así como el tamaño de ésta, la forma, etc. Esto es un inconveniente importante ya que la elección del voxel-semilla puede alterar y sesgar los resultados. En esta tesis, eliminaremos esta limitación introduciendo una nueva metodología basada en la combinación de las imágenes de RMf basadas en tareas y RMf en estado de reposo.

**ICA.** El primer autor en utilizar ICA para el análisis de datos de RMf fue McKeown y cols (1998) [103] y, desde entonces, la aplicación de esta técnica se ha ido incrementando paulatinamente. Su aplicabilidad ha abierto las puertas a nuevas posibilidades en el diseño de estudios y de análisis de medidas en neuroimagen funcional. Esta aplicabilidad presenta algunas restricciones y limitaciones [103]. La metodología de la técnica ha sido analizada por diferentes autores y existen diferentes variaciones del método [104, 105].

Asumiremos que el cerebro está organizado en un número de redes funcionalmente discretas. La idea principal es obtener las fuentes originales a partir de las fuentes observadas con total desconocimiento de la mezcla. Este método se denomina separación ciega de fuentes (“Blind Source Separation”, en inglés). Este método nos proporcionará las componentes independientes, en los que identificaremos patrones espacio-temporales correspondientes a las redes funcionales descritas en la literatura [95, 106, 107] (la Fig.2.14 muestra algunas de estas redes cerebrales, más estables en el estado de reposo), así como también las componentes de ruido.

Las ventajas de los métodos no-supervisados como el ICA es que son especialmente útiles

cuando no tenemos una hipótesis sobre la región a priori a elegir, o no se conoce qué regiones están implicadas en una tarea determinada o la conectividad estructural implícita, por lo que los análisis están dirigidos por los datos. Una de las limitaciones es que no es una respuesta perfecta para un análisis de conectividad funcional, más bien es un método de inspección de redes, complementario a otros métodos. La metodología utilizada en estos análisis se explicará detenidamente en la sección 2.5.

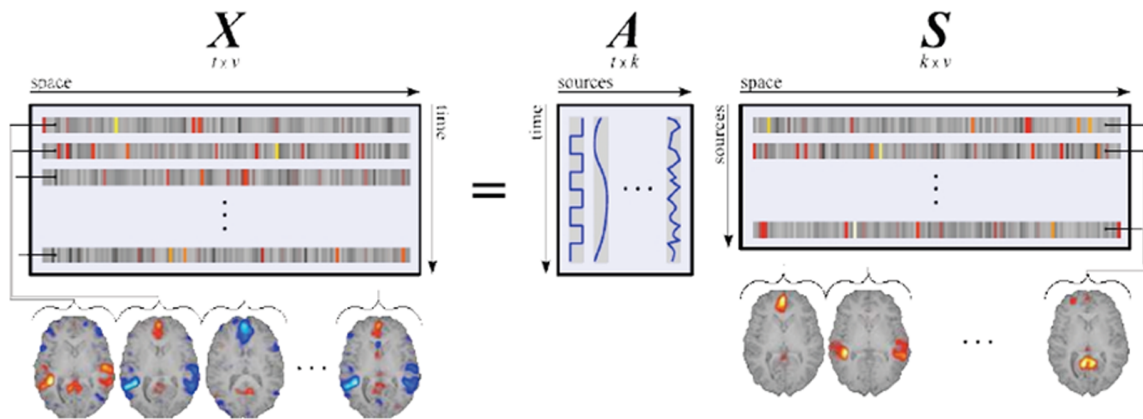


Figura 2.13: ICA espacial para datos de RMf. Descomposición de las imágenes de la Señal BOLD en componentes independiente espacio-temporales. Notar que, la independencia estadística se aplica a los volúmenes. Figura extraída y modificada de [108].

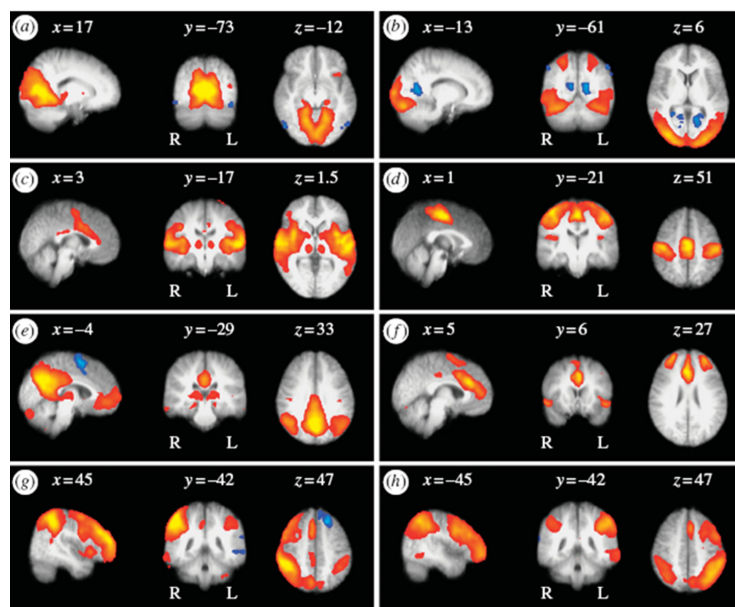


Figura 2.14: Redes cerebrales obtenidas en el estudio de Beckmann y cols. (2005) [107]. Representan los patrones de conectividad funcional de las imágenes de RMf en el estado de reposo. (R: derecha; L: izquierda).

**Análisis de Clúster.** “Clustering”, es una técnica matemática que busca patrones en los datos. Más específicamente, el clustering es la partición no-supervisada (clasificación) de los datos en subconjuntos (clúster), de tal manera que los vóxels o regiones que pertenecen a un grupo (clúster) se parezcan lo más posible entre sí, y a su vez difieran lo máximo posible de los asignados a otros grupos (clúster). Este planteamiento es completamente diferente de la metodología estadística habitual ya que aquí no hay una hipótesis previa.

Hay muchas técnicas posibles para el análisis mediante clustering: Hierarchical clustering approach, partitional clustering (k-means), spectral clustering approaches, etc. Las ventajas de esta metodología es que no solo se puede utilizar para los estudios de imágenes de RMf en estado de reposo, sino que también puede ser aplicada en imágenes de RMf evocadas por tarea y en imágenes de tensor de difusión (DTI, siglas en inglés) y tractografía, para el cálculo de la conectividad estructural. Ésta consiste en una red de conexiones físicas de conjuntos de neuronas enlazadas (red sináptica), y representa simplemente la presencia de conexiones axonales. Así, el cálculo mediante clustering detecta tanto redes funcionales como subdivisiones cerebrales anatómicas cerebrales. La limitación de este método es el hecho de tener que definir el número de clústers para la partición de los datos a priori, porque normalmente es desconocido.

**Clasificación de Patrones.** La metodología de clasificación de patrones (Pattern classification, en inglés), recientemente ha ido tomando importancia en los análisis de RMf [109, 110], aunque mayormente se ha utilizado para RMf evocada por tarea y RMe, y no tanto para datos de RMf en estado de reposo.

Los análisis de patrones multivariantes (Multivariate pattern analysis (MVPA)), es una aproximación multivariante (al igual que ICA y clustering) que calcula los patrones multi-voxel de la actividad cerebral o conectividad. La información en estos patrones puede ser decodificada mediante algoritmos de clasificación de patrones, por lo que podemos mostrar relaciones entre la actividad neuronal (conectividad) y los estados cognitivos.

La aplicación de esta técnica conlleva unos pasos básicos:

- Elección de una **característica** que describa y represente los datos.
- Selección de un **subconjunto de estas características** que será usado para la clasificación.
- Selección del **algoritmo de clasificación de patrones**.
- División de los datos en dos conjuntos: **conjunto de datos de entrenamiento y conjunto de datos de test**.
- Utilizar el conjunto de entrenamiento para **entrenar el clasificador** con las características y respectivas clases de los datos. Este clasificador “aprenderá” la relación entre las características y las clases.
- **Testear** el conjunto de datos de test con el algoritmo de clasificación entrenado, y medir el porcentaje de clasificaciones correctas.

Para el cálculo de estos algoritmos, es importante una buena elección de la característica (ICA, PCA, coeficiente de correlación, etc). Así como la elección del algoritmo (supervised machine learning algorithm) más adecuado, entre los que se destacan: “support vector machines” (SVM) y el



discriminante lineal (LDA) para el aprendizaje de relaciones lineales funcionales entre las características y las clases, o clasificación no lineal mediante “non-linear SVM” o “neural networks” entre otros.

Las ventajas de usar el MVPA son varias: incremento en sensibilidad (la información débil de un único vóxel es acumulada a través de muchos vóxels), varias regiones (vóxels) solo pueden llevar información sobre el estado cognitivo cuando se analizan conjuntamente, previene de la pérdida de la información debida al suavizado espacial y puede preservar la resolución temporal en lugar de caracterizar las respuestas promediando a través de muchos eventos. Y la limitación más importante es la elección de la característica adecuada y el algoritmo de clasificación ya que de momento no se conoce cuál es el mejor para cada uno de los datos.

**Teoría de Grafos.** En este apartado, introduciremos una breve descripción de la teoría de grafos utilizada recientemente para el estudio de los patrones de conectividad del cerebro [111]. Como ya hemos visto, los datos de conectividad funcional comprenden redes de regiones cerebrales conectadas anatómicamente por tractos o mediante asociaciones funcionales. Esta conectividad pueden representarse mediante grafos en forma matricial. La conectividad estructural del cerebro constituye en estos casos un grafo disperso y dirigido. El grafo puede estar ponderado con pesos que representan las densidades de conexión o eficacia, o bien puede ser binario, con elementos que indican la presencia o ausencia de una conexión. En el caso de la conectividad funcional, la representación del cerebro forma una matriz completa y simétrica, en el que cada uno de los elementos de codificación viene dado por la dependencia estadística. Tales matrices pueden ser umbralizadas para producir grafos binarios no dirigidos, donde se puede controlar el grado de dispersión mediante el umbral. Por otra parte, la conectividad efectiva del cerebro, ofrece una matriz no simétrica completa.

La teoría de grafos se puede aplicar al cerebro dando regiones de interés (o vóxels) como **vértices o nodos** y las conexiones (conectividad funcional o conectividad estructural, probabilidad de conexión entre dos regiones en la imagen de tensor de difusión, o correlación inter-regional en los análisis de grosor cortical o “cortical thickness”) entre ellos como **aristas o lados**. Una arista puede ser asignada entre dos vértices si el coeficiente de correlación excede un cierto umbral o tomar el coeficiente de correlación como un **peso** de cada arista. Un **camino (path)** es una secuencia de vértices donde todos los vértices sucesivos están conectados por aristas, y su **longitud** es el número de aristas que hay en él. La **distancia** entre dos vértices distintos de un grafo es la longitud del camino más corto que hay entre ellos. El **diámetro** de un grafo es el máximo de las distancias entre cualquier par de vértices. Y por último, el **grado** de un vértice es el número de aristas conectadas a él.

Un concepto de medida para la estructura global de los grafos que se da en los estudios de imagen de RM, es el grado de distribución ( $\mathbf{P}(\mathbf{k})$  probabilidad de que un vértice aleatoriamente elegido de un grafo tenga grado  $k$ ), que nos da información sobre el número de vértices que tiene el grado más alto (“**hubs**”). Este término ha sido recientemente introducido en el campo de la neuroimagen por Buckener y cols. (2009) [112], encontrando que las regiones con alto “hubness”, o **centralidad** eran más propensas al deterioro en sujetos con la enfermedad de Alzheimer (EA). El grado de distribución también permite estudiar la vulnerabilidad de un grafo con *error aleatorio* (un vértice aleatorio es eliminado repetidamente del grafo) y “*target attacks*” (elimina el vértice del grafo con grado más alto, también, de manera repetida) [113]. Después de cada repetición, la vulnerabilidad del grafo puede ser medida mediante varias herramientas:

*coeficientes de clustering*, *promedio de la longitud del path* (la media de todas las distancias entre cualquier par de vértices, es una medida que muestra si un grafo está bien integrado), propiedades *small-world* y *eficiencia local y global* [114, 115, 116, 117]. Estos conceptos pueden ser aplicados para proporcionar la resiliencia o vulnerabilidad de la organización funcional o estructural del cerebro. Las medidas de **modularidad** describen la divisibilidad de una red en diferentes componentes (módulos) con alta conectividad interna, pero con poca conectividad inter-módulo [118, 119, 120]. De estas medidas nace un nuevo concepto para caracterizar las redes, “small-world network”. Éstas redes tendrán un coeficiente de clustering alto, sin un promedio de longitud de path significativamente alto, es decir, es un grafo en el que la mayoría de los nodos no son vecinos unos de otros, pero a la mayoría de los nodos se puede llegar desde cualquier otro por un pequeño número de saltos o pasos ([121] para más detalles sobre las “small-world networks”).

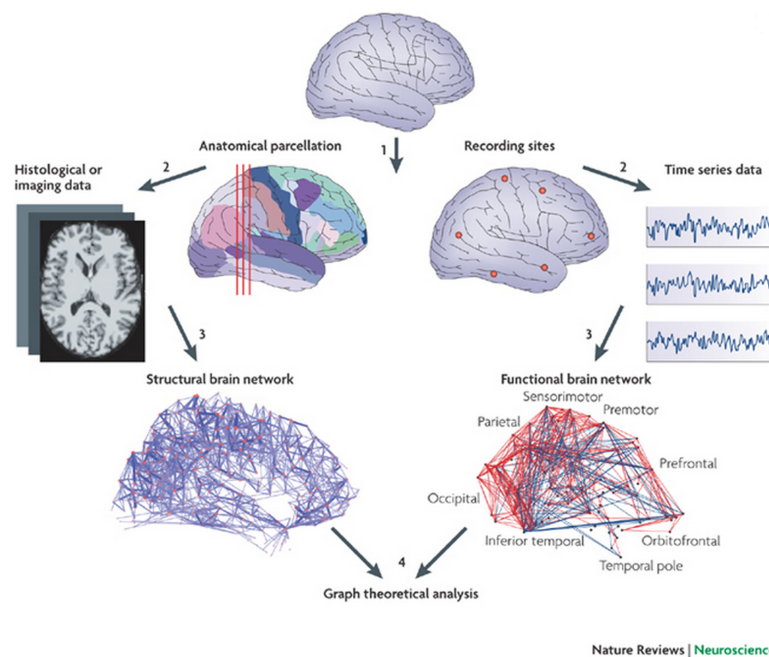


Figura 2.15: Las redes estructurales y funcionales pueden ser exploradas usando la teoría de grafos, mediante los cuatro pasos siguientes: 1) Definición de los nodos. 2) Estimación de la medida continua de asociación de los nodos. Ésta podría ser un conjunto de datos de las correlaciones inter-regionales o medidas de volumen de la RMe estimados en grupos de sujetos, etc. 3) Generar una matriz de asociación mediante la compilación de todas las asociaciones de pares entre los nodos y aplicar un umbral para cada elemento de esta matriz para producir una matriz de adyacencia binaria o grafo no dirigido. 4) Cálculo de los parámetros de red de interés en este modelo y compararlos con los parámetros equivalentes de una población de redes. Figura extraída y modificada de [111].

Por lo tanto, las ventajas que nos proporciona la teoría de grafos es su efectividad en los análisis de la topología cerebral y nos da información sobre la organización cerebral más allá de la propia red. Como limitaciones, podemos destacar que es una técnica computacionalmente compleja para las distintas métricas nombradas anteriormente. Por esto su aplicación a nivel de

vóxel en el cerebro entero no es factible, por lo que es necesario la definición *a priori* de regiones de interés, teniendo con esto el mismo problema en la selección de la región adecuada.

**Métodos “locales”.** Los llamados “métodos locales”, están dirigidos a investigar la actividad local cerebral. Esto se basa en la hipótesis de que la actividad cerebral significativa es más probable que ocurra en un clúster que en un simple vóxel. Existen dos métodos para medidas locales: la homogeneidad regional (ReHo, son sus siglas en inglés) y la amplitud de fluctuaciones de baja frecuencia (ALFF, son sus siglas en inglés).

**ReHo (Regional Homogeneity).** Explora la actividad regional cerebral en las fluctuaciones de baja frecuencia de la señal BOLD, examinando el grado de coherencia funcional de un vóxel con sus vecinos más cercanos. Se basa en la hipótesis de que los vóxeles colindantes en una área funcional sincronizan su actividad metabólica bajo ciertas condiciones. El análisis de ReHo se realiza vóxel a vóxel mediante el cálculo del coeficiente de concordancia de Kendall [122] de la serie temporal de un vóxel dado, con sus vecinos más próximos. El coeficiente de concordancia de Kendall es usado para medir la similaridad de las series temporales en un clúster funcional basado en las hipótesis de homogeneidad regional [123]. Mientras que pruebas como el coeficiente de correlación de Pearson asumen que los valores siguen una distribución normal y la comparación es dos a dos, el coeficiente de Kendall no hace ninguna asunción con respecto a la naturaleza de la distribución de probabilidad y puede manejar cualquier número de resultados distintos.

La definición del clúster para la obtención de los vóxeles vecinos puede ser 7, 19 o 27 vóxeles (ver Fig.2.16), y el valor del coeficiente es dado por el vóxel central del clúster (1 muy similar, 0 nada). Definimos en coeficiente de Kendall ( $W$ ):

$$W = \frac{\sum(R_i^2) - n(\bar{R}^2)}{\frac{1}{12}k^2(n^3 - n)} \quad (2.18)$$

Donde,

$$R_i = \sum_{j=1}^k r_{ij} \quad (2.19)$$

$$\bar{R} = (n + 1) \frac{k}{2}$$

siendo  $r_{ij}$  el rango de los  $i$ -ésimos puntos temporales de los  $j$ -ésimos vóxeles,  $n$  el número de puntos temporales de cada vóxel de la serie temporal y  $k$  el número de vóxeles en la medida del clúster.

Notar que los análisis de ReHo están afectados por la magnitud del suavizado espacial (esto incrementaría la región de similaridad) por lo que se recomienda realizar el suavizado después del cálculo de ReHo, y por el tamaño de los “vecinos” (7, 19 o 27 vóxeles). Además, para reducir los efectos globales debido a la variabilidad de los participantes, la medida de ReHo de cada vóxel será dividido por el valor de la media global de ReHo.

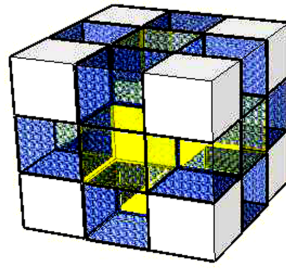
**Homogeneidad regional (ReHo)**

Figura 2.16: Métodos locales. Definición de clúster para el análisis de homogeneidad regional (ReHo) dependiendo de los vóxeles vecinos seleccionados:  $k=7$  (vóxeles amarillos, arriba, abajo, derecha e izquierda),  $k=19$  voxels (todos menos los blancos), y  $k=27$  (el vóxel central + 26 vecinos) que constituye el clúster entero. Figura extraída de [www.restfmri.net/forum/Course](http://www.restfmri.net/forum/Course).

**ALFF (Amplitude of low frequency fluctuations)** ALFF es un *índice* integrado en un rango de baja frecuencia (estado de reposo: 0.01-0.1 Hz), que nos indica la intensidad regional (magnitud vóxel a vóxel) de las fluctuaciones espontáneas en la señal BOLD. En este análisis, la serie temporal de las imágenes de RMf es transformada a un dominio frecuencial con la transformada de Fourier rápida (FFT) y de aquí obtendremos el espectro de potencia (“power spectrum”, en inglés) de las fluctuaciones de baja frecuencia. La transformada de Fourier se utiliza para pasar al “dominio frecuencial” una señal, para así obtener información que no es evidente en el “dominio temporal”. La transformada de Fourier es básicamente el espectro de frecuencias de una función. Un buen ejemplo de eso es lo que hace el oído humano, ya que recibe una onda auditiva y la transforma en una descomposición en distintas frecuencias (que es lo que finalmente se escucha). El oído humano va percibiendo distintas frecuencias a medida que pasa el tiempo, sin embargo, la transformada de Fourier contiene todas las frecuencias contenidas en todos los tiempos en que existió la señal; es decir, en la transformada de Fourier se obtiene un solo espectro de frecuencias para toda la función. Luego, el espectro de potencia de las fluctuaciones de baja frecuencia es la representación gráfica de la información de la transformada (la transformada no solamente contiene información sobre la intensidad de determinada frecuencia, sino también sobre su fase) Fig.2.17. Por lo tanto, promediando la raíz cuadrada para cada frecuencia del espectro de potencia a través de 0.01-0.1 Hz [90] para cada voxel, obtendremos el valor de ALFF (ya que el espectro de potencia es proporcional al cuadrado de la ALFF). Al igual que hacemos para los análisis de ReHo, normalizamos el ALFF de cada vóxel dividiéndolo por el valor de la media global ALFF.

ALFF parece ser un método prometedor para detectar los cambios de señal regional de la actividad espontánea. ALFF nos indica que un valor alto en un área debe reflejar una actividad neuronal espontánea alta. Sin embargo, se ha mostrado que ALFF tiene un valor significativamente más alto que la media global ALFF cerca de grandes vasos sanguíneos, ventrículos y en las cisternas [124]. Esto sugiere que la aproximación por ALFF debe ser sensible a la señal de las fluctuaciones que contribuyen al ruido fisiológico, las cuales son irrelevantes para la actividad cerebral. Por lo tanto, una medida mejor es la propuesta **fALFF (fractional amplitude of low frequency fluctuation)** [125], la cual es menos

sensible a estos ruidos fisiológicos. La definimos como la proporción del espectro de potencia en el rango de baja frecuencia (0.01-0.1 Hz), calculada en el rango total de la frecuencia (detectable), es decir, la suma de la amplitud a través del rango de baja frecuencia dividido por la suma de la amplitud del rango de frecuencia completo. Notar que en fALFF no se realiza el filtrado paso banda en el preprocesado, esto nos asegura que podamos examinar la amplitud de las fluctuaciones de baja frecuencia en el rango de frecuencia completo. Así pues, obtendremos de la misma manera que en ALFF el espectro de potencia, la amplitud de de las fluctuaciones de baja frecuencia en 0.01-0.1 Hz, y por ultimo dividiendo la suma de las amplitudes por la suma de las amplitudes en todo el rango de frecuencia detectable obtenemos el fALFF.

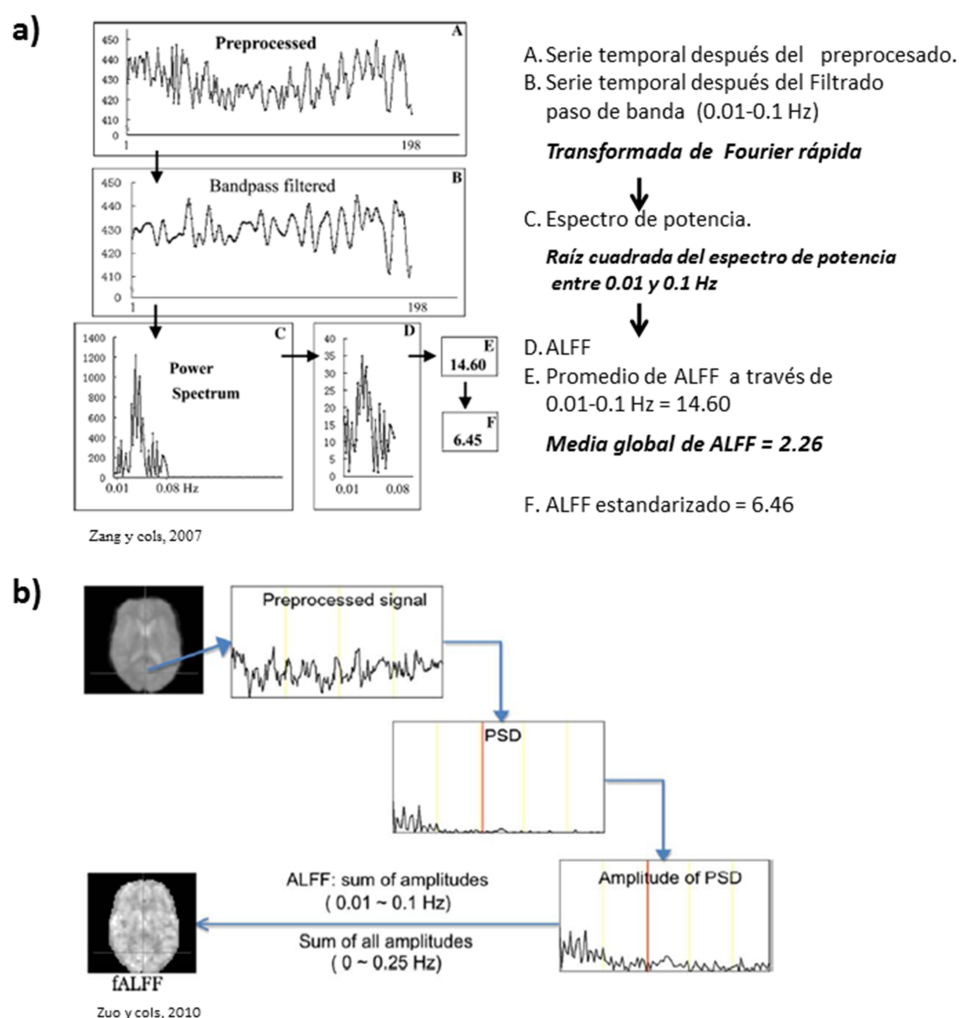


Figura 2.17: a) Representación gráfica del análisis de ALFF [124]; b) representación gráfica de fALFF [126], mostrando el diagrama calculado para un mapa individual de amplitud de fluctuaciones de baja frecuencia (ALFF) y fraccional ALFF (fALFF).

**Exponente de Hurst** Por último, una nueva técnica introducida dentro de los análisis de RMf en estado de reposo es el denominado **exponente de Hurst**. Es una medida que caracteriza los procesos aleatorios de las series temporales, y está asociado a la teoría del caos y procesos aleatorios. Se utiliza como una medida de memoria a largo plazo de la serie temporal y se relaciona con el coeficiente de autocorrelación de las series (similitud entre las observaciones en función del tiempo de separación entre ellas). Este exponente se conoce como el “índice de dependencia a largo plazo”, midiendo la intensidad de dependencia a largo plazo de la serie temporal. El exponente de Hurst lo denotaremos como  $H$  o  $H_q$ , y su valor está en el rango de  $0 < H < 1$ . Donde,

- Un valor de  $H = 0,5$  mostraría series incorreladas que serían compatibles con un proceso totalmente aleatorio.
- Un valor  $0 < H < 0,5$  sería una serie anti-persistente (series temporales con cambios a largo plazo entre valores altos y bajos de pares adyacentes, es decir, después de un valor alto vendría uno bajo) o anti-correlado, que se caracteriza por un mayor contenido de alta frecuencia y por lo tanto, más tendencia al caos. Un  $H = 0$  indicaría la existencia de ruido blanco.
- Un valor  $0,5 < H < 1$  indica una serie temporal con autocorrelaciones positivas a largo plazo, es decir, si las fluctuaciones se incrementan (o decrecen) en el pasado supondrán un incremento (o decremento) en el promedio de las fluctuaciones en el futuro. Por lo tanto, en este caso sería una serie persistente indicando fluctuaciones más regulares y persistentes.

Se ha demostrado, en base al movimiento browniano generalizado, que el exponente de Hurst está relacionado con el coeficiente de correlación de la siguiente manera.

$$r = 2^{2H-1} - 1 \quad (2.20)$$

siendo  $-1/2 < r < 1$  el coeficiente de correlación (<http://coco.ccu.uniovi.es/geofractal/>)

Recientemente, varios artículos han propuesto su utilidad para imágenes de RMf en el estado de reposo [127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134]. Lai y cols [130] especulan en su artículo que el exponente de Hurst muestra el grado de organización y coordinación en circuitos neurales en pequeña escala.

## 2.5. Introducción al Análisis de Componentes Independientes (ICA)

El análisis de componentes independientes (ICA) fue desarrollado originalmente para tratar los problemas que están estrechamente relacionados con el efecto “Cocktail-Party”, el cual se produce cuando varios locutores hablan al mismo tiempo, y cuyo objetivo final consiste en separar cada una de esas señales de voz para poder escucharlas sin las influencias de las otras. El creciente interés sobre ICA, queda claramente reflejado en sus muchas otras aplicaciones interesantes. Consideramos, por ejemplo, las grabaciones eléctricas (impulsos nerviosos) de la actividad cerebral que vienen dados por la electroencefalografía (EEG). Los datos obtenidos del EEG consisten en grabaciones de potenciales eléctricos en diferentes localizaciones de la zona cortical.

Estos potenciales son generados por la combinación de algunos componentes subyacentes de la actividad cerebral. Esta situación es bastante similar al problema del “Cocktail-Party”: queremos encontrar los componentes originales de la actividad cerebral, pero lo único que observamos es la combinación de los componentes. ICA revela información interesante en la actividad cerebral, dándonos acceso a sus componentes independientes. Lo que pretende la técnica ICA es, a partir de una información “mezclada”, reconstruir la información original.

### 2.5.1. Definición de ICA

Para definir rigurosamente ICA [135, 136], utilizaremos un modelo estadístico de variables latentes, es decir, no pueden ser directamente observadas. Asumiremos que observamos  $n$  combinaciones lineales  $x_1, \dots, x_n$  de  $n$  componentes independientes,

$$x_j = a_{j1}s_1 + a_{j2}s_2 + \dots + a_{jn}s_n, \text{ para todo } j. \quad (2.21)$$

donde  $x_j$  representa la combinación lineal y cada  $s_k$  representa las componentes independientes. Asumimos que cada combinación  $x_j$ , así como cada componente independiente  $s_k$ , es una variable aleatoria. Sin pérdida de generalidad, podemos asumir que ambas variables tienen media cero. Si esto no se cumpliera, entonces las variables observadas  $x_i$  siempre pueden ser centradas restándoles la media muestral. A lo largo del todo el capítulo, utilizaremos la notación matricial de ICA. Así, denotaremos por  $\mathbf{x}$  el vector aleatorio cuyos elementos son las combinaciones lineales  $x_1, \dots, x_n$ , y asimismo por  $\mathbf{s}$  el vector aleatorio conteniendo las componentes independientes  $s_1, \dots, s_n$ . Por último, denotaremos por  $\mathbf{A}$  la matriz con elementos  $a_{ij}$ . De esta forma, expresamos el modelo ICA de la siguiente manera:

$$\mathbf{x} = \mathbf{A} \mathbf{s}. \quad (2.22)$$

Si denotamos las columnas de la matriz  $\mathbf{A}$  como  $a_j$ , escribimos el modelo como:

$$x = \sum_{i=1}^n a_i s_i \quad (2.23)$$

El modelo ICA es un modelo generativo, lo que significa que describe cómo los datos observados son generados por un proceso de combinación de los componentes  $s_i$ . Los únicos datos que observamos en este modelo es el vector aleatorio  $\mathbf{x}$ , y asumiremos que la matriz  $\mathbf{A}$  es desconocida, por lo que debemos estimar tanto  $\mathbf{A}$  como  $\mathbf{s}$  utilizando dicho vector  $\mathbf{x}$ . Para empezar, debemos tener en cuenta las siguientes hipótesis: que las componentes  $s_i$  son estadísticamente *independientes* (Sección 2.5.2), y también deberemos asumir que las componentes independientes tienen una distribución *no-gaussiana* (Sección 2.5.3.1). Por simplicidad, podemos asumir que la matriz desconocida  $\mathbf{A}$  es cuadrada, entonces una vez estimada esta matriz, podemos calcular su inversa,  $\mathbf{W}$  y obtener las componentes independientes mediante:

$$\mathbf{s} = \mathbf{W} \mathbf{x}. \quad (2.24)$$

En la práctica, deberíamos asumir que hay algo de ruido en las medidas [137, 138], lo que significa que se debería incluir un término de ruido en el modelo. Sin embargo, este problema de estimación no es simple. Por tal motivo, la mayoría de los desarrollos e investigaciones en ICA se han concentrado en una definición más simple, en la cual el modelo ICA se plantea libre de ruido (noise-free ICA model), el cual parece ser suficiente para muchas aplicaciones.

### 2.5.2. Independencia: Definición y propiedades

Para definir el concepto de independencia, consideraremos dos variables aleatorias (escalares)  $y_1$  y  $y_2$ . Diremos que las variables  $y_1$  y  $y_2$  son independientes, si la información del valor  $y_1$  no da ninguna información sobre el valor  $y_2$ , y viceversa. Así pues, notemos que éste es el caso de las variables  $s_1$  y  $s_2$ , pero esto mismo no ocurre con  $x_1$  y  $x_2$ . Técnicamente, la independencia puede ser definida a partir de la densidad de probabilidad. Denotaremos por  $p(y_1, y_2, \dots, y_n)$  la función de densidad de probabilidad conjunta de  $y_1, y_2, \dots, y_n$ , y  $p_i(y_i)$  la función de densidad de probabilidad marginal de  $y_i$  para  $i = 1, \dots, n$ . Entonces diremos que  $y_i$  son independientes si y solo si la función de densidad de probabilidad conjunta puede ser factorizada de la siguiente manera:

$$p(y_1, y_2, \dots, y_n) = p_1(y_1)p_2(y_2)\dots p_n(y_n). \quad (2.25)$$

Una de las propiedades más importantes a tener en cuenta en la independencia de las variables aleatorias, es que dadas dos funciones  $h_1$  y  $h_2$ , siempre se cumple

$$E\{h_1(y_1)h_2(y_2)\} = E\{h_1(y_1)\}E\{h_2(y_2)\}. \quad (2.26)$$

Es importante también resaltar que las variables incorreladas solo son "parcialmente independientes". Si las variables son independientes, entonces se cumple que son incorreladas, basta tomar  $h_1(y_1)=y_1$  y  $h_2(y_2)=y_2$  en la Ec. 2.26. Diremos que  $y_1$  y  $y_2$  son incorreladas si su covarianza es cero:

$$E\{y_1y_2\} - E\{y_1\}E\{y_2\} = 0 \quad (2.27)$$

En cambio, la incorrelación *no* implica independencia, esto hace que la independencia estadística sea mucho más restrictiva que la correlación, ya que podemos tener variables incorreladas, pero que no son independientes. Muchos métodos ICA limitan la estimación de modo que siempre dan estimaciones incorreladas de los componentes independientes.

### 2.5.3. Principios de la estimación de ICA

Repasemos algunas aproximaciones para la estimación de ICA.

#### 2.5.3.1. Medidas no-gaussianas o de no-normalidad

La no-gaussianidad es la clave fundamental para la estimación del modelo ICA, de hecho, sin no-gaussianidad es imposible la estimación, como máximo solo una de las componentes independientes puede ser gaussiana.

**¿Por qué no-gaussianas?** Si asumimos la matriz  $\mathbf{A}$  ortogonal y  $s_i$  gaussianas y con varianza unidad, entonces  $x_1$  y  $x_2$  son gaussianas, incorreladas, y con varianza unitaria. Su función de densidad conjunta vendría dada por:

$$p(x_1, x_2) = \frac{1}{2\pi} \exp\left(-\frac{x_1^2 + x_2^2}{2}\right) \quad (2.28)$$



Esta distribución viene ilustrada en la Figura 2.18. En la que podemos observar que la densidad es completamente simétrica, por lo tanto no existe ninguna información sobre las direcciones de las columnas de la matriz  $\mathbf{A}$ , por lo que no podemos estimar  $\mathbf{A}$ .

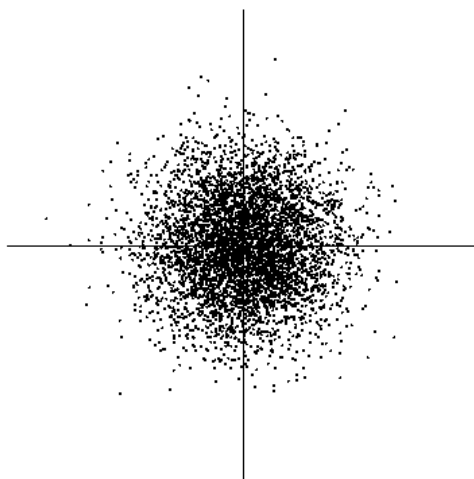


Figura 2.18: Distribución de dos variables normales (gaussianas) independientes. Figura extraída de [139]

**Teorema Central del Límite** El Teorema Central de Límite es un resultado clásico de la teoría de la probabilidad. Nos dice que la distribución de una suma de variables aleatorias independientes tiende, bajo ciertas condiciones, a una distribución gaussiana. Entonces, buscar las variables generadoras menos gaussianas, implica intuitivamente que éstas no vienen de la combinación de otras variables, lo que a su vez se puede entender como independencia. Asumiremos ahora que el vector  $\mathbf{x}$  está distribuido de acuerdo al modelo ICA de Ec. 2.22, y que las componentes independientes son idénticamente distribuidas (únicamente en este apartado, por simplicidad). Para estimar las componentes independientes seguiremos la Ec. 2.24, denotamos esto como

$$y = \mathbf{w}^T \mathbf{x} = \sum_i w_i x_i, \quad (2.29)$$

donde  $\mathbf{w}$  es el vector que queremos encontrar. Si  $\mathbf{w}$  fuera una de las filas de la inversa de la matriz  $\mathbf{A}$ , esta combinación lineal sería igual a una de las componentes independientes. En la práctica, no podemos determinar  $\mathbf{w}$  exactamente, ya que no conocemos  $\mathbf{A}$ , pero podemos encontrar un estimador que dé una buena aproximación. Esto nos conduce a los principios básicos de la estimación de ICA, de la siguiente manera: hacemos un cambio de variables y definimos  $\mathbf{z} = \mathbf{A}^T \mathbf{w}$ . Entonces,

$$y = \mathbf{w}^T \mathbf{x} = \mathbf{w}^T \mathbf{A} \mathbf{s} = \mathbf{z}^T \mathbf{s}. \quad (2.30)$$

Por tanto,  $y$  es una combinación lineal de  $s_i$ , con las ponderaciones dadas por  $z_i$ . Puesto que la suma de dos variables aleatorias independientes es más gaussiana que las variables originales,  $z^T s$  es más gaussiana que cualquiera de las  $s_i$  y será menos gaussiana cuando en realidad sea igual a una de las  $s_i$ . En este caso, obviamente solo uno de los elementos  $z_i$  de  $\mathbf{z}$  es distinto de cero. Por lo tanto, podremos tomar como  $\mathbf{w}$  un vector que *maximiza la no-gaussianidad de  $w^T x$* . Este vector deberá corresponder a un  $\mathbf{z}$  el cual tiene un único componente distinto de cero, es decir,  $w^T x = z^T s$  igual a una de las componentes independientes.

Por lo tanto, intuitivamente hemos visto que para extraer las componentes independientes, buscaremos una matriz  $\mathbf{W}$  (“un-mixing matrix”) que maximice la no-gaussianidad de las componentes.

**Curtosis** La Curtosis es una medida clásica de no-gaussianidad. Sea una variable aleatoria  $y$ , asumiremos que está centrada (media cero) y tiene varianza igual a uno. Entonces, definimos curtosis de  $y$  por:

$$kurt(y) = E\{y^4\} - 3(E\{y^2\})^2 \quad (2.31)$$

Como hemos asumido que tiene varianza unitaria, la expresión anterior queda simplificada:

$$kurt(y) = E\{y^4\} - 3 \quad (2.32)$$

Para una variable aleatoria gaussiana, la curtosis es igual a cero, mientras que para las variables aleatorias no-gaussianas es no-cero. La curtosis puede ser positiva, a estas variables las llamaremos *supergaussianas*, o negativa, a las que llamamos *subgaussianas*. Normalmente, la no-gaussianidad es medida por el valor absoluto de la curtosis. La principal razón de utilizar la curtosis como medida de no-gaussianidad en ICA es su simplicidad, ya que puede ser estimada simplemente usando el cuarto momento de los datos de la muestra. Y por las propiedades de linealidad: sean  $x_1$  y  $x_2$  dos variables aleatorias independientes, entonces

$$\begin{aligned} kurt(x_1 + x_2) &= kurt(x_1) + kurt(x_2) \\ kurt(\alpha x_1) &= \alpha^4 kurt(x_1), \text{ donde } \alpha \text{ es un escalar.} \end{aligned} \quad (2.33)$$

Sin embargo, en la práctica la curtosis tiene algunos inconvenientes, cuando sus valores son calculados a partir de una muestra. El principal problema es que la curtosis puede ser muy sensible a los “outliers”. Por lo que la curtosis no es un método robusto para la medida de no-gaussianidad.

**Negentropía** Una segunda medida muy importante de no-gaussianidad, es la dada por la negentropía, que se basa en la cantidad de información teórica de la entropía. La entropía es el concepto básico de la teoría de la información. La entropía de una variable aleatoria se puede interpretar como el grado de información que da la observación de la variable. Cuanto más aleatoriedad en una variable, mayor será su entropía. Un resultado fundamental en la teoría de la información es que una variable gaussiana es la que tiene una mayor entropía entre todas las variables aleatorias de igual varianza [140, 141]. Podemos definir la

entropía  $\mathbf{H}$  de una variable aleatoria discreta  $\mathbf{Y}$  como:

$$\begin{aligned} H(Y) &= - \sum_{y \in Y} P(y) \log P(y) \\ &= \sum_{y \in Y} P(y) \log \frac{1}{P(y)} \\ &= E[\log \frac{1}{P(y)}] \end{aligned} \quad (2.34)$$

donde  $y$  son los posibles valores de  $Y$ . Si generalizamos la definición para variables continuas, tenemos la llamada entropía diferencial  $H$ . Así la entropía diferencial de un vector aleatorio  $\mathbf{y}$  con densidad  $f(\mathbf{y})$ , la definimos como [140, 141]:

$$H(\mathbf{y}) = - \int f(\mathbf{y}) \log f(\mathbf{y}) d\mathbf{y} \quad (2.35)$$

Para obtener medidas de no-gaussianidad, usaremos una versión modificada de la definición de entropía diferencial, llamada negentropía. Ésta será no negativa, y solo valdrá cero si y solo si  $\mathbf{y}$  se distribuye normalmente. Definiremos la negentropía  $J$  como:

$$J(\mathbf{y}) = H(\mathbf{y}_{gauss}) - H(\mathbf{y}) \quad (2.36)$$

donde  $\mathbf{y}_{gauss}$  es una variable aleatoria gaussiana con la misma matriz de covarianzas que  $\mathbf{y}$ . La negentropía también tiene la propiedad de ser invariante frente a transformaciones lineales invertibles [136, 142].

La negentropía es un buen estimador de no-gaussianidad, pero computacionalmente la estimación es complicada, ya que requiere de una estimación (posiblemente no paramétrica) de la función de densidad. Por lo tanto, es muy útil considerar las aproximaciones de la negentropía.

**Aproximaciones de la negentropía.** Un método clásico, sería usando los momentos de alto orden [143]:

$$J(y) \approx \frac{1}{12} E\{y^3\}^2 + \frac{1}{48} kurt(y)^2 \quad (2.37)$$

donde la variable aleatoria  $y$  se supone con media cero y varianza unidad; pero muchas veces estas aproximaciones pueden resultar algo limitadas. En particular, estas aproximaciones pueden ser no robustas a causa de la curtosis. Para evitar estos problemas, se recurre a las aproximaciones basadas en el principio de máxima entropía:

$$J(y) \approx \sum_{i=1}^p k_i [E\{G_i(y)\} - E\{G_i(\nu)\}]^2 \quad (2.38)$$

donde  $k_i$  son constantes positivas,  $y$  es de media cero y varianza unidad, al igual que  $\nu$ , que además es una variable normal, y las funciones  $G_i$  son funciones no cuadráticas [144].

En el caso donde usamos solo una función no cuadrática  $G$ , la aproximación queda:

$$J(y) \propto [E\{G(y)\} - E\{G(\nu)\}]^2 \quad (2.39)$$

Esto es claramente, si  $y$  es simétrica, una generalización de la aproximación en la Ec. 2.37. En efecto, si tomamos  $G(y) = y^4$ , obtenemos la Ec. 2.37.

Un punto importante a tener en cuenta, es la elección de  $G$  para obtener una aproximación de negentropía mejor que la dada por la Ec. 2.37. En particular, deberíamos elegir una función  $G$  que no crezca demasiado rápido, así obtendríamos estimadores más robustos. Por ejemplo, las siguientes elecciones de  $G$  han resultado ser muy útiles:

$$\begin{aligned} G_1(u) &= \frac{1}{a_1} \log \cosh a_1 u, \\ G_2(u) &= -\exp\left(\frac{-u^2}{2}\right) \end{aligned} \quad (2.40)$$

donde los valores  $1 \leq a_1 \leq 2$  para la constante, da buenas aproximaciones.

### 2.5.3.2. Minimización de la información mutua

Otra aproximación para la estimación de ICA, inspirada en la teoría de la información, es la minimización de la información mutua. La información mutua es la medida de la cantidad de información que una variable aleatoria contiene sobre otra. Usando el concepto de entropía diferencial, definimos la información mutua  $I$  entre  $n$  variables aleatorias (escalares),  $y_i$ ,  $i = 1, \dots, n$  como:

$$I(y_1, y_2, \dots, y_n) = \sum_{i=1}^n H(y_i) - H(y) \quad (2.41)$$

donde  $y$  es el vector conteniendo a las variables  $y_i$ . La información mutua es siempre una medida positiva, y cero si y solo si las variables son estadísticamente independientes. La información mutua tiene en cuenta toda la estructura de la dependencia de las variables, y no solo la covarianza (como en el análisis de componentes principales, que denotaremos con sus siglas en inglés, PCA). Sería una medida de la dependencia de las variables. Por lo tanto, el camino más natural de estimación del modelo ICA es encontrar una transformación que minimice la información mutua entre las componentes  $s_i$ . Este enfoque da al mismo tiempo un método de calcular ICA de acuerdo con la definición dada en la sección 2.5.1. Una importante propiedad de la información mutua ([141, 140]), es que para una transformación lineal invertible  $\mathbf{y} = \mathbf{W}\mathbf{x}$  tenemos:

$$I(y_1, y_2, \dots, y_n) = \sum_{i=1}^n H(y_i) - H(\mathbf{x}) - \log |\det \mathbf{W}| \quad (2.42)$$

Entonces, definiremos el modelo ICA de un vector aleatorio  $\mathbf{x}$  como la transformación invertible definida en Ec. 2.24, donde la matriz  $\mathbf{W}$  se determina de forma que la información mutua de los componentes  $s_i$  sea mínima.

En particular, si  $y$  es incorrelada y de varianza unitaria, tenemos que  $E\{\mathbf{y}\mathbf{y}^T\} = \mathbf{W}E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\}\mathbf{W}^T = \mathbf{I}$ , que implica:

$$\det \mathbf{I} = 1 = \det(\mathbf{W}E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\}\mathbf{W}^T) = \det(\mathbf{W})\det(E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\})\det(\mathbf{W}^T) \quad (2.43)$$

esto implica que  $\det \mathbf{W}$  debe ser constante. De esta manera, utilizando la definición dada en la Ec. 2.36, podemos expresar la información mutua usando negentropía como [136]:

$$I(y_1, y_2, \dots, y_n) = J(y) - \sum_i J(y_i) \quad (2.44)$$

Luego, es obvio (por ser la negentropía invariante a transformaciones lineales, ya que entonces,  $J(y)$  sería constante) que encontrar las direcciones en las que la negentropía (suma de  $J(y_i)$ ) es máxima, es equivalente a encontrar una representación donde la información mutua es mínima.

### 2.5.3.3. Estimación de máxima verosimilitud

Una aproximación muy popular es la estimación de máxima verosimilitud, que más adelante veremos que es equivalente a la minimización de la información mutua.

Denotando por  $\mathbf{W}=(\mathbf{w}_1, \dots, \mathbf{w}_n)^T$  la matriz de  $\mathbf{A}^{-1}$ , tenemos que la log-verosimilitud sería [145]:

$$L = \sum_{t=1}^T \sum_{i=1}^n \log f_i(\mathbf{w}_i^T \mathbf{x}(t)) + T \log |\det \mathbf{W}| \quad (2.45)$$

donde  $f_i$  son las funciones de densidad de  $s_i$  (aquí asumimos que son conocidas), y  $\mathbf{x}(t)$ ,  $t = 1, \dots, T$  son los valores observados de  $\mathbf{x}$ . Recordamos, que en general, para cualquier vector aleatorio  $\mathbf{x}$  con densidad  $p_x$  y para cualquier matriz  $\mathbf{W}$ , la densidad de  $\mathbf{y}=\mathbf{W}\mathbf{x}$  viene dada por  $p_x(\mathbf{W}\mathbf{x})|\det \mathbf{W}|$ .

Para ver la conexión entre la estimación de máxima verosimilitud y la información mutua, consideramos la esperanza de la log-verosimilitud:

$$\frac{1}{T} E\{L\} = \sum_{i=1}^n E\{\log f_i(\mathbf{w}_i^T \mathbf{x})\} + \log |\det \mathbf{W}| \quad (2.46)$$

Entonces, si  $f_i$  fuera igual a las distribuciones reales de  $\mathbf{w}_i^T \mathbf{x}$ , el primer término quedaría igual a  $-\sum_i H(\mathbf{w}_i^T \mathbf{x})$ . Por tanto, excepto por una constante ( $H(x)$ ), tendríamos la equivalencia con la información mutua (negativa) de la Ec. 2.42.

## 2.5.4. ICA y el preprocesado previo de los datos

Un paso previo al cálculo de ICA, es el preprocesado de los datos. Este es un paso importante, ya que los datos reales pueden contener patrones impuros (ruido, datos incompletos, ...) que pueden dar lugar a resultados poco útiles. A continuación, trataremos algunas de las técnicas de preprocesado mediante las cuales obtendremos un modelo ICA mejor (y más simple), preparado para la estimación mediante un algoritmo ICA (Sección 2.5.6).

### 2.5.4.1. Centrado de los datos

El primer paso de preprocesado, para simplificar la estimación de los algoritmos ICA, es centrar  $\mathbf{x}$ , es decir, restarle la media ( $\mathbf{m}=E\{\mathbf{x}\}$ ), para que tenga media cero. Esto implica que  $s_i$  también tendrá media cero, como podemos ver en la definición de la Ec. 2.22. Este preprocesado se realiza únicamente para simplificar los algoritmos, pero por supuesto, podemos estimar la media. Una vez estimada la matriz  $\mathbf{A}$  con los datos centrados, la media del vector  $\mathbf{s}$ , viene dada por  $\mathbf{A}^{-1}\mathbf{m}$ . Esta media se sumaría a la estimación centrada de  $\mathbf{s}$ , para tener la estimación completa.

### 2.5.4.2. Blanqueo de los datos

Este preprocesado se lleva a cabo antes del uso de los algoritmos ICA y después del centrado de los datos. Se trata de hacer una transformación lineal del vector observado  $\mathbf{x}$  para obtener un nuevo vector  $\tilde{\mathbf{x}}$ , donde sus componentes sean incorreladas y con varianza unidad, es decir, la matriz de covarianzas de  $\tilde{\mathbf{x}}$  es la matriz identidad:

$$E\{\tilde{\mathbf{x}}\tilde{\mathbf{x}}^T\} = \mathbf{I} \quad (2.47)$$

El método más utilizado para el blanqueo, es la descomposición en valores propios de la matriz de covarianza:

$$E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\} = \mathbf{E}\mathbf{D}\mathbf{E}^T \quad (2.48)$$

donde  $\mathbf{E}$  es la matriz ortogonal de vectores propios de  $E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\}$ , y  $\mathbf{D} = \text{diag}(d_1, \dots, d_n)$  es la matriz diagonal de sus valores propios asociados. Así podemos realizar el blanqueo, mediante:

$$\tilde{\mathbf{x}} = \mathbf{E}\mathbf{D}^{-1/2}\mathbf{E}^T\mathbf{x} \quad (2.49)$$

donde  $\mathbf{D}^{-1/2} = \text{diag}(d_1^{-1/2}, \dots, d_n^{-1/2})$ , con lo que es fácil ver que  $E\{\tilde{\mathbf{x}}\tilde{\mathbf{x}}^T\} = \mathbf{I}$ .

Ahora, teniendo en cuenta las Ec. 2.22 y Ec. 2.49, obtendremos una nueva matriz,  $\tilde{\mathbf{A}}$ ,

$$\tilde{\mathbf{x}} = \mathbf{E}\mathbf{D}^{-1/2}\mathbf{E}^T\mathbf{A}\mathbf{s} = \tilde{\mathbf{A}}\mathbf{s} \quad (2.50)$$

La importancia del proceso de blanqueo reside en que la nueva matriz  $\tilde{\mathbf{A}}$  es una matriz ortogonal (se asume que las componentes independientes  $s_i$  tienen varianza unidad y son ortogonales, pues de hecho se busca que sean independientes):

$$E\{\tilde{\mathbf{x}}\tilde{\mathbf{x}}^T\} = \tilde{\mathbf{A}}E\{\mathbf{s}\mathbf{s}^T\}\tilde{\mathbf{A}}^T = \tilde{\mathbf{A}}\tilde{\mathbf{A}}^T = \mathbf{I} \quad (2.51)$$

Como vemos, el proceso de blanqueo reduce el número de parámetros a estimar.

También es útil para reducir la dimensión de los datos. Calculamos los valores propios  $d_j$  de  $E\{\mathbf{x}\mathbf{x}^T\}$  y eliminamos aquellos que son demasiado pequeños, como hacemos con la técnica estadística PCA (análisis de componentes principales). Lo que reducirá el efecto del ruido, y el “sobreadaptamiento”, que puede ser observado algunas veces en ICA [146].

En el resto del capítulo, asumiremos que los datos ya han sido preprocesados, y por simplicidad de notación, denotaremos los datos solo por  $\mathbf{x}$  y  $\mathbf{A}$ , omitiendo las tildes.

## 2.5.5. ICA vs PCA

### 2.5.5.1. Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales (PCA) es una técnica estadística de síntesis de la información, o reducción de la dimensión (número de variables). Es decir, ante un banco de datos con muchas variables, el objetivo será reducirlas a un menor número, perdiendo la menor cantidad de información posible y así eliminar la redundancia de los datos.

Las nuevas componentes principales o factores serán una combinación lineal de las variables originales, y además serán incorreladas.

Un análisis de componentes principales tiene sentido si existen altas correlaciones entre las variables, ya que esto es indicativo de que existe información redundante y, por tanto, pocos factores explicarán gran parte de la variabilidad total.

La elección de los factores se realiza de tal forma que el primero recoja la mayor proporción posible de varianza original; el segundo factor debe recoger la máxima varianza posible no recogida por el primero, y así sucesivamente. (Cuanto mayor sea la variabilidad de los datos, se considera que existe mayor información, lo cual está relacionado con el concepto de entropía). Del total de factores, se elegirán aquéllos que recojan el porcentaje de variabilidad que se considere suficiente. A los factores obtenidos mediante esta técnica, se les denominará componentes principales.

Por todo esto, es que el PCA es usado como una forma de preprocesado de datos (blanqueo).

El cálculo de estas componentes principales se lleva a cabo mediante el cálculo de los vectores y valores propios de la matriz de covarianza del vector aleatorio  $\mathbf{x}$ :

$$\mathbf{D} = \mathbf{V}^T \text{cov}(x) \mathbf{V} \quad (2.52)$$

o bien:

$$\text{cov}(x) = \mathbf{V} \mathbf{D} \mathbf{V}^T \quad (2.53)$$

donde  $\mathbf{D}$  es la matriz diagonal que contiene los valores propios de la matriz de covarianza de  $\mathbf{x}$  en su diagonal y  $\mathbf{V}$  es la matriz de vectores propios asociados.

### 2.5.5.2. Comparamos ICA y PCA

Tal como se ha explicado en la sección anterior, PCA es utilizado como un preprocesado para eliminar la información redundante, el objetivo de ICA no es el de reducir la dimensión. El principal uso de ICA es el de encontrar las fuentes originales a partir de unas observaciones (“mezclas”) lineales.

También, como hemos comentado, PCA pretende encontrar combinaciones lineales que proporcionen mayor información, mientras que ICA obtiene componentes independientes donde la entropía es mínima, es decir, que proporcionan menor información.

Ambas técnicas buscan dar respuesta a lo que consideran “interesante” en cada caso: incorrelación en el caso de PCA, que involucra a los momentos de segundo orden, en cambio, ICA al buscar independencia, involucraría a momentos de más alto orden. En ese aspecto, podríamos considerar ICA como una extensión de PCA. En las siguientes gráficas, podemos observar claramente las diferencias entre ambas técnicas:

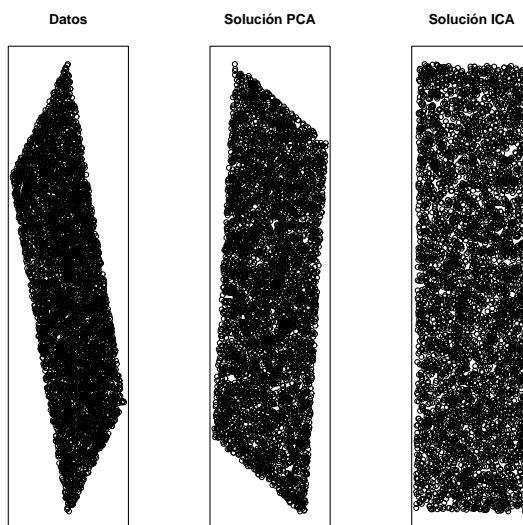


Figura 2.19: Mezcla de dos variables uniformes independientes (5000 realizaciones), junto con las soluciones PCA e ICA.

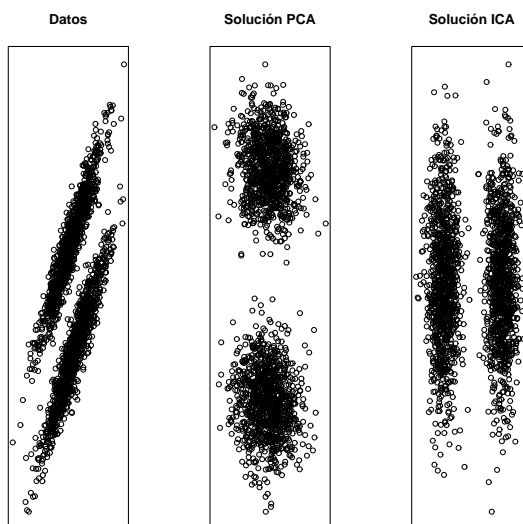


Figura 2.20: Observamos una mixtura de dos normales bivariantes. Con PCA, al buscar la dirección de máxima varianza en primer lugar, no obtenemos separación entre ambos clústers (con solo una dimensión). En cambio, sí se obtiene con ICA, por buscar la no-gaussianidad.



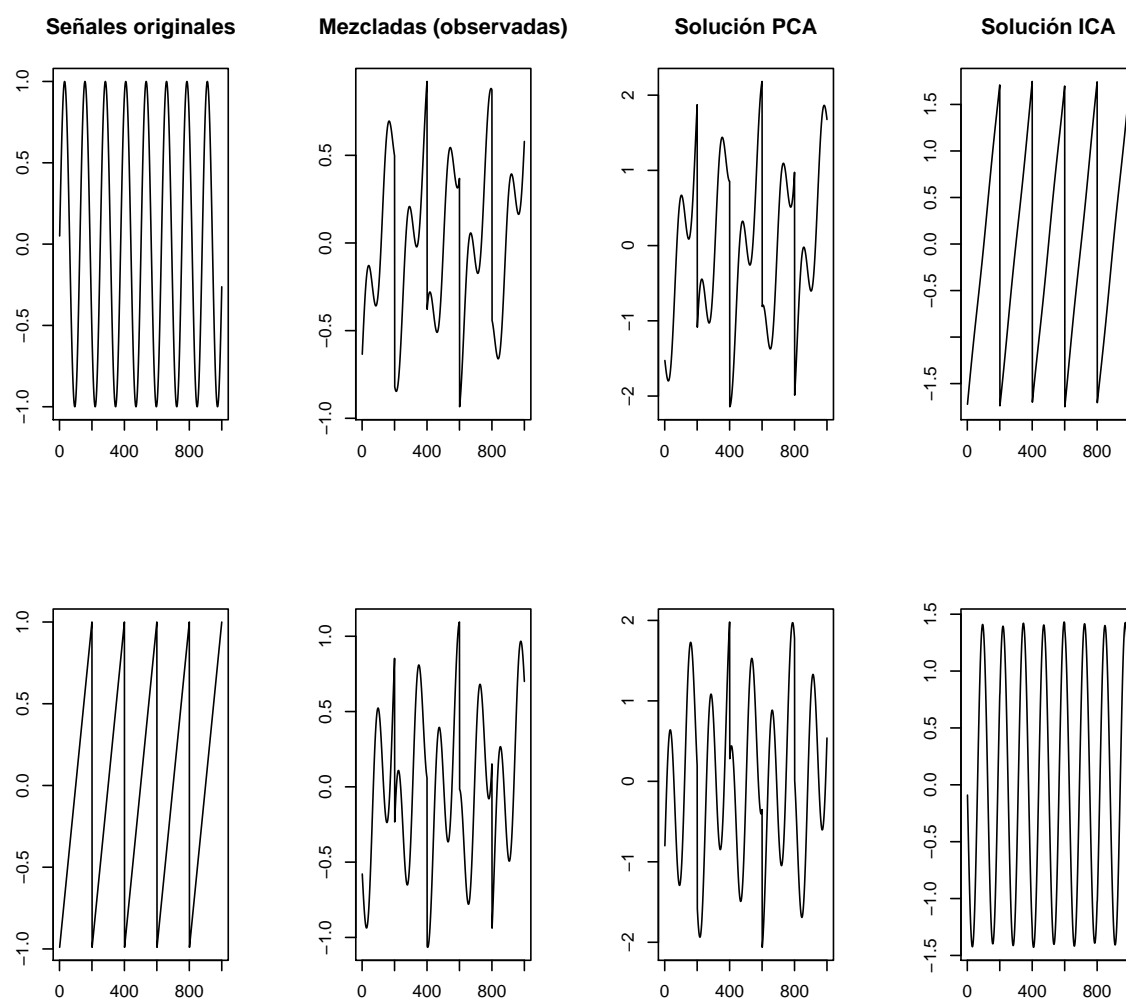


Figura 2.21: Primero se muestran las dos señales “fuentes”, luego las que observamos (que son mezcla lineal de las originales), y por último las soluciones que obtendríamos con PCA e ICA.

### 2.5.6. Algoritmos

ICA se puede implementar con diferentes algoritmos, algoritmos que exploran tanto las propiedades algebraicas de las fuentes como la estructura y geometría de su distribución. Entre ellos destacaremos: **FastICA**, el cual como función de coste utiliza la negentropía y como algoritmo de optimización utiliza iteración de punto fijo, y **Infomax**, que utiliza máxima entropía como función de coste y como algoritmo de optimización utiliza gradiente descendente.

**FastICA** Este algoritmo fue propuesto por A. Hyvärinen y E. Oja ([147]). El objetivo de este algoritmo es la búsqueda de las componentes independientes en los diferentes contextos de medidas de no-gaussianidad introducidos en las secciones anteriores.

Asumiremos que los datos han sido preprocesados, es decir, los datos están centrados y

blanqueados.

Este algoritmo está basado en el método de iteración de punto fijo, para encontrar un máximo de no-gaussianidad de  $\mathbf{w}^T \mathbf{x}$ , medida como en la Ec.2.39, véase [147, 148] para más detalles, pues aquí solo indicaremos las líneas generales del algoritmo. También puede ser optimizada utilizando el método de Newton [148]. Denotaremos por  $g$  la derivada de la función no cuadrática  $G$  usada en Ec. 2.39; por ejemplo las derivadas de las funciones en Ec. 2.40 son:

$$\begin{aligned} g_1(u) &= \tanh(a_1 u), \\ g_2(u) &= u \exp\left(\frac{-u^2}{2}\right) \end{aligned} \quad (2.54)$$

Donde  $1 \leq a_1 \leq 2$  son los valores de la constante para obtener una buena aproximación (aunque lo más habitual es tomar  $a_1 = 1$ ). El calculo básico del algoritmo FastICA es:

1. Elegimos un vector  $\mathbf{w}$  (aleatorio) inicial
2.  $\mathbf{w}^+ = E\{\mathbf{x}g(\mathbf{w}^T \mathbf{x})\} - E\{g'(\mathbf{w}^T \mathbf{x})\}\mathbf{w}$
3.  $\mathbf{w} = \frac{\mathbf{w}^+}{\|\mathbf{w}^+\|}$
4. si no converge, volvemos al paso 2

Este procedimiento es iterativo, hasta que todas las filas de  $\mathbf{W}$  son determinadas. Un punto importante, es que debe evitarse que los vectores converjan al mismo máximo, para ello deberemos decorrelacionar las salidas  $\mathbf{w}_1^T \mathbf{x}, \dots, \mathbf{w}_n^T \mathbf{x}$  después de cada iteración.

El algoritmo FastICA es un programa libre, disponible para Matlab y R (<http://www.cis.hut.fi/projects/ica/fastica/>).

**Infomax** Infomax es uno de los algoritmos ICA que más se ha empleado y tiene su origen en un contexto de redes neuronales. Este algoritmo se deriva planteando el criterio de maximización del flujo de información en una red neuronal (Infomax principle) [149]. Puede demostrarse que Infomax, al mismo tiempo, maximiza la probabilidad de obtener las observaciones  $x$  (estimador de máxima verosimilitud). Dado que las funciones de probabilidad de densidad (*pdfs*, siglas en inglés) de las fuentes no son conocidas, es necesario imponer un modelo para las mismas. Afortunadamente, puede demostrarse que el estimador es poco sensible a errores en la especificación de las *pdfs* y por lo tanto, solo es necesario seleccionar entre dos familias de funciones de probabilidad: sub-gaussianas o super-gaussianas. En este algoritmo la maximización se implementa a través de un método de optimización basado en gradientes. El cálculo básico del algoritmo Infomax es:

1. Centrar los datos para hacerlos de media cero
2. Elegir una matriz aleatoria  $A$  de mezcla. Elegir como valores iniciales aleatorios  $\gamma_i$ ,  $i = 1, \dots, n$ , o usando información previa. Elegir los ratios de aprendizaje  $\mu_\gamma$
3. Calcula  $y = Ax$
4. Si la no linealidad no está fijada a priori:
  - Actualizar  $\gamma_i = (1 - \mu_\gamma)\gamma_i + \mu_\gamma E\{-\tanh(y_i)y_i + (1 - \tanh(y_i)^2)\}$

- Si  $\gamma_i > 0$ , se define  $g_i$  como  $g^+(y) = -2\tanh(y)$ , en otro caso  $g^-(y) = \tanh(y) - y$
5. Actualizar la matriz de mezcla:
- $A \leftarrow A + \mu[I + g(y)y^T]A$
  - donde  $g(y) = (g_1(y_1), \dots, g_n(y_n))^T$
6. Si no converge, regresar al paso 3.

Las ventajas que proporciona el algoritmo Infomax aplicados a las imágenes de RMf en comparación con otros algoritmos ya mencionados como por ejemplo el FastICA, es que proporciona un mayor valor de  $z$  para aquellas componentes relacionadas con la activación cerebral y se consigue una mejor relación contraste-ruido [150].

## 2.6. Clasificación de Datos Funcionales

Los avances tecnológicos han permitido que podamos tener adquisiciones de datos como datos funcionales o curvas en tiempo real. El análisis de datos funcionales (*FDA*) nos proporciona los procedimientos estadísticos necesarios para analizar observaciones funcionales. Ramsay y Silverman (2005) [5] dan una excelente visión general sobre *FDA*, así como Ferraty y Vieu (2006) [151] proporcionan una visión complementaria e interesante sobre los métodos no-paramétricos de los datos funcionales. El campo de *FDA* es bastante nuevo, pero en los últimos años se han desarrollado interesantes aplicaciones en diferentes campos de investigación [6]. Los programas usados en los libros por los autores, está disponible en las páginas web de estos libros.

### 2.6.1. Análisis de Datos Funcionales (FDA)

En un número creciente de campos aplicados, las observaciones tomadas son curvas o imágenes. Éstas son ejemplos de funciones, puesto que la intensidad medida estaría disponible en cada punto de un segmento de línea o de una porción de un plano o volumen. En el *FDA* la unidad básica de información es la función completa (1 función = 1 dato), más que una secuencia de observaciones individuales. Estas observaciones individuales no son independientes, sino que corresponden a una función, por tanto tienen una estructura intrínseca; no es una simple ristra de datos con una forma determinada: son observaciones correspondientes a una función de la cual pueden considerarse sus derivadas. Las derivadas juegan un papel importante para interpretar el comportamiento dinámico asociado al dato funcional.

**Objetivos del análisis de datos funcionales.** Los objetivos del análisis de datos funcionales son los mismos de cualquier otra rama de estadística:

- Representar los datos para análisis posteriores.
- Presentar datos de manera que se pongan de manifiesto determinadas características.
- Explicar la variabilidad de una variable dependiente en función de las variables independientes.
- Comparar conjuntos de datos respecto a diferentes tipos de variables.

- Clasificar grupos de datos en función de sus semejanzas y diferencias.

Podemos enfocar el análisis de datos funcionales como: un análisis exploratorio, en el que revelar los aspectos interesantes de los datos (media y varianzas muestrales, registro de funciones y componentes principales funcionales); análisis confirmatorio, para contrastar hipótesis (ANOVA funcional, regresión funcional); o un análisis predictivo, es decir, ¿qué pasará con datos diferentes del análisis? (tendencia y clasificación).

**Estadísticas descriptivas en FDA.** Las estadísticas descriptivas clásicas se aplican igualmente cuando se tienen datos funcionales. Si tenemos un conjunto de datos funcionales  $x_i(t)$  ( $i=1, \dots, n$ ), las correspondientes funciones descriptivas vienen dadas por las siguientes expresiones [5]:

#### Media funcional

$$\bar{x}(t) = \frac{\sum_{i=1}^n x_i(t)}{n} \quad (2.55)$$

#### Varianza funcional

$$Var_X(t) = \frac{\sum_{i=1}^n [x_i(t) - \bar{x}(t)]^2}{n-1} \quad (2.56)$$

#### Desviación típica funcional

$$\sigma(t) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [x_i(t) - \bar{x}(t)]^2}{n-1}} \quad (2.57)$$

#### Covarianza funcional

$$cov_X(t_1, t_2) = \frac{\sum_{i=1}^n [x_i(t_1) - \bar{x}(t_1)][x_i(t_2) - \bar{x}(t_2)]}{n-1} \quad (2.58)$$

#### Correlación funcional

$$corr_X(t_1, t_2) = \frac{cov_X(t_1, t_2)}{\sqrt{var_X(t_1)var_X(t_2)}} \quad (2.59)$$

Notar que, si las curvas no están registradas, la media puede parecerse poco a las funciones originales, y las varianzas serán muy altas (incluyendo la variabilidad por amplitud y por fase).

Los primeros pasos a realizar en un análisis de datos funcionales son: el suavizado y/o interpolación de los datos, el registro de las funciones y las representaciones gráficas. A continuación trataremos estos puntos con un poco más de detalle.

##### 2.6.1.1. Representación de los datos: Suavizado y/o interpolación

Como hemos comentado, los datos funcionales aparecen como un conjunto de valores discretos,  $y_{i1}, \dots, y_{in}$ , luego la primera tarea a realizar, es la transformación de estos valores a una función  $x_i$  con valores  $x_i(t)$ . Si los valores discretos se asumen sin errores, entonces el proceso que se sigue es el de la *interpolación*, pero si existe error observacional que necesitamos eliminar, entonces la conversión de dato discreto a función lo realizaremos mediante el *suavizado*.

Normalmente, utilizaremos combinaciones lineales de bases de funciones como el método principal para la representación de funciones. En particular, consideraremos dos bases de funciones: la base de Fourier y la base de B-splines.

**Bases de Funciones** Un sistema de bases de funciones es un conjunto de funciones  $\phi_k$  que son matemáticamente independientes entre ellas y que tienen la propiedad de que podemos aproximar arbitrariamente bien cualquier función, tomando una suma ponderada o una combinación lineal de un número  $K$  de estas funciones lo suficientemente grande. El sistema de bases de funciones más familiar es la colección de monomios que son usados para construir series de potencias,

$$1, t, t^2, t^3, \dots, t^k, \dots \quad (2.60)$$

Uno de los sistemas de bases más importante es el sistema de *series de Fourier*,

$$1, \text{sen}(\omega t), \text{cos}(\omega t), \text{sen}(2\omega t), \text{cos}(2\omega t), \text{sen}(3\omega t), \text{cos}(3\omega t), \dots, \text{sen}(k\omega t), \text{cos}(k\omega t), \dots$$

La bases de funciones representan una función  $x$  por una expansión lineal:

$$x(t) = \sum_{k=1}^K c_k \phi_k(t) \quad (2.61)$$

en términos de  $K$  bases de funciones  $\phi_k(t)$  conocidas.

**Base de Fourier.** Por lo tanto, podemos aproximar la función  $x$  mediante la serie de Fourier como:

$$\hat{x}(t) = c_0 + c_1 \text{sen}(\omega t) + c_2 \text{cos}(\omega t) + c_3 \text{sen}(2\omega t) + c_4 \text{cos}(2\omega t) + \dots \quad (2.62)$$

definido por las bases  $\phi_0(t) = 1, \phi_{2r-1}(t) = \text{sen}r\omega t, \phi_{2r}(t) = \text{cos}r\omega t$ . La base de Fourier es una base periódica, y el parámetro  $\omega$  determina el periodo  $2\pi/\omega$ . Si los valores de  $t_j$  son equiespaciados en  $T$  (intervalo acotado en el que estudiamos  $x$ ) y el periodo es igual a la longitud del intervalo  $T$ , entonces la base (dividiéndolas con constantes apropiadas) es *ortonormal* ( $\Phi'\Phi = I$ ).

La Transformada Rápida de Fourier (FFT) es bastante eficiente, ya que es posible encontrar todos los coeficientes eficientemente cuando  $n$  es una potencia de 2 y los argumentos son equiespaciados.

La estimación de la derivada en una base de Fourier es sencilla. Ejemplo:

$$Dx(t) = 0 - \omega c_2 \text{sen}(\omega t) + \omega c_1 \text{cos}(\omega t) - 2\omega c_4 \text{sen}(2\omega t) + 2\omega c_3 \text{cos}(2\omega t) - \dots \quad (2.63)$$

La serie de Fourier es especialmente útil para funciones extremadamente estables, es decir, sin fuertes características locales y curvatura similar en todas partes. La periodicidad de la serie de Fourier debe reflejarse en los datos. Pero es inadecuada si sabemos que existen discontinuidades en la función o sus derivadas.

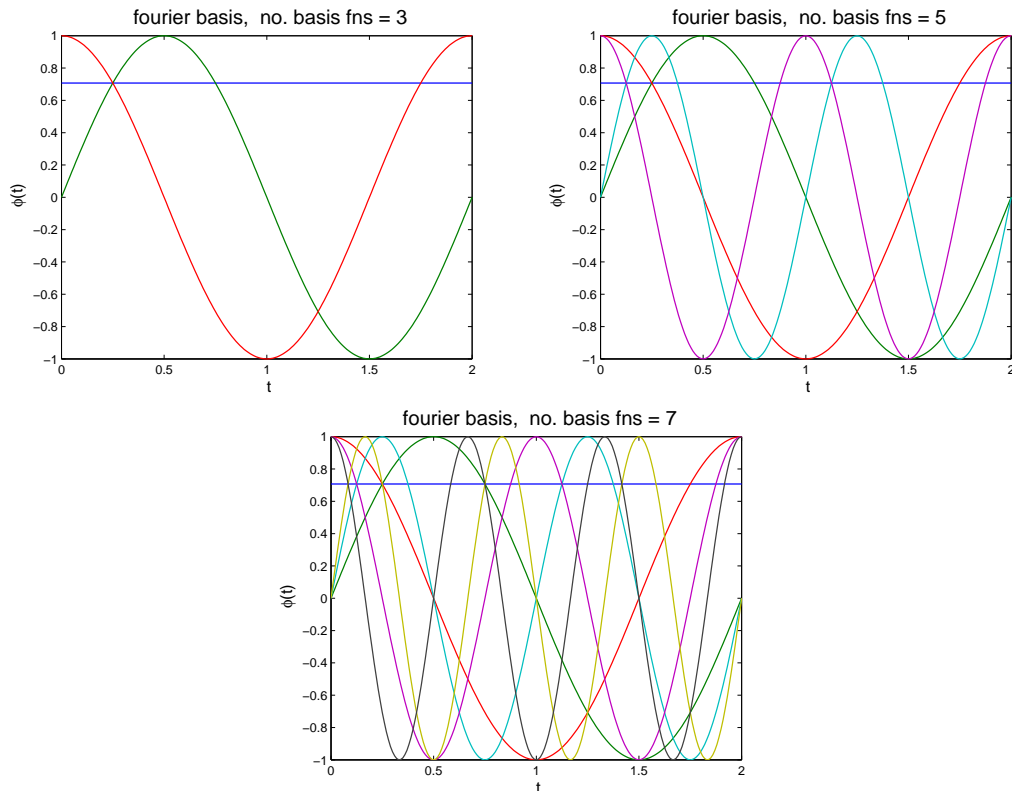


Figura 2.22: Base de Fourier: tomando las funciones base  $\phi_k$  para  $K=3, 5$  y  $7$ .

**Funciones Splines.** Las funciones Spline es la elección más común de aproximación para datos funcionales no periódicos. Tienen una computación rápida y mayor flexibilidad que los polinomios, con pocas funciones base. En esta sección primero examinaremos la estructura de una función Spline, y a continuación describiremos el sistema de base más usual para construir splines, el sistema B-spline. La estructura de una función spline viene representada en la Fig. 2.23.

El primer paso para definir un spline es dividir el intervalo en  $L$  subintervalos separados por valores  $\tau_l$ ,  $l = 1, \dots, L - 1$  llamados puntos de corte o nodos. En cada intervalo un spline es un polinomio de orden  $m$  (grado  $m - 1$ ) (en la Fig. 2.23 vemos que tres puntos de corte dividen el intervalo en cuatro subintervalos), el orden del polinomio es el número de constantes necesarias para definirlo.

Los polinomios adyacentes se unen suavemente en los puntos de corte, por lo que los valores de las funciones son iguales en sus uniones. Además, las derivadas hasta orden  $m - 2$  coinciden también en sus uniones.

Elegiremos el orden de spline, teniendo en cuenta, que el orden depende del número de derivadas que necesitamos calcular, por ejemplo: si deseamos una segunda derivada suave, usaremos un spline de al menos orden 6 para que la segunda derivada sea al menos suave como un spline cúbico. Conforme mayor sea el orden (con los mismos nodos), tendremos una mejor aproximación, pero la principal forma de ganar flexibilidad es aumentar el número de nodos (notar, que si no hay puntos de corte interiores, el spline es un polinomio). La mayoría de veces elegiremos los

puntos de cortes equiespaciados, pero lo mejor es usar más puntos de corte donde haya variación más compleja. No tiene sentido que haya nodos sin datos, al menos debe haber un dato dentro de cada subintervalo.

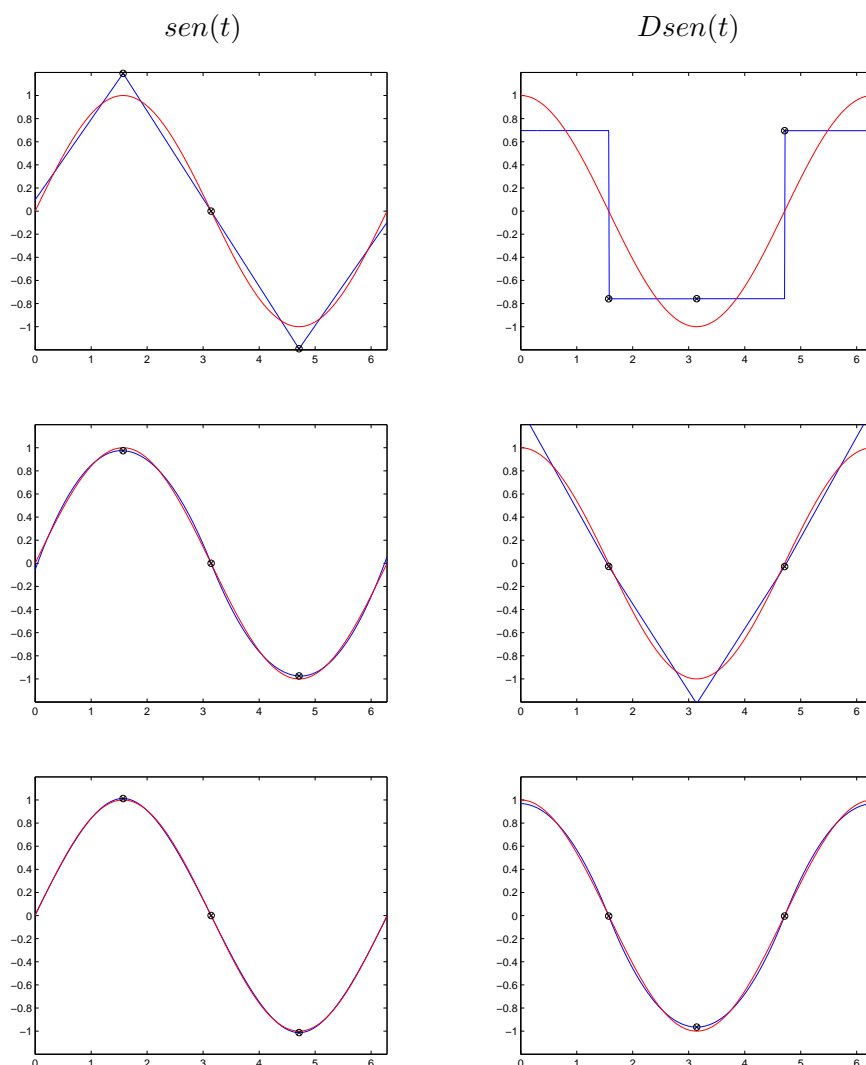


Figura 2.23: 1<sup>a</sup> fila: orden 2, 2<sup>a</sup> fila: orden 3, 3<sup>a</sup> fila: orden 4. Izq: la línea azul indica la función spline ajustada a la función seno representada por la línea roja, sobre el intervalo  $[0, 2\pi]$ . Drcha: ajuste a su derivada, función coseno.

Resumiendo, una función spline está determinada por dos cosas: el orden de los segmentos polinomiales, y la sucesión de puntos  $\tau$ . El número de parámetros requeridos para definir una función spline en una situación usual de un nodo por punto de corte, es el orden más el número de nodos interiores,  $m + L - 1$ . Respecto a la elección de los puntos de corte, algunas de las formas de emplazamiento habituales son: a) equiespaciados (con al menos un dato por intervalo), b) un punto de corte cada cierto número fijo de observaciones, es decir, colocación por cuantiles, c) métodos dirigidos por los datos, tipo selección de variables, etc. Notemos también que, el incrementar el número de puntos de corte de  $K$  a  $K + 1$  no siempre mejora el ajuste, pues no

necesariamente el  $K - \text{espacio} \subseteq (K + 1) - \text{espacio}$ . Sí sucede si añadimos un nuevo punto de corte a los actuales o incrementamos el orden sin variar los puntos de corte.

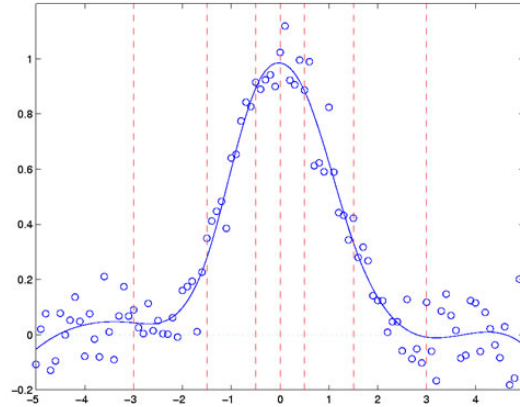


Figura 2.24: Usaremos más nodos donde la variación sea más compleja.

**Base B-spline para funciones splines.** Hemos definido una función spline, pero no hemos hablado de cómo construirla. Para esto, especificaremos un sistema de funciones base  $\phi_k(t)$ , que tendrá las siguientes propiedades:

- Cada función base  $\phi_k(t)$  es en sí misma una función spline.
- La combinación lineal de funciones base es una función spline.
- Cualquier spline puede expresarse como combinación lineal de estas funciones base.

Aunque hay muchas maneras de construirla, la más popular es el *sistema base B-spline* desarrollado por Boor(2001). También existen otras bases de splines: potencias truncadas, M-splines, usar Fourier o exponenciales a trozos en vez de polinomios, etc.

La función base de orden  $m$  es positiva como mucho en  $m$  intervalos adyacentes (eficiencia computacional). Una función spline  $S(t)$  con nodos discretos interiores se define de la siguiente manera:

$$S(t) = \sum_{k=1}^{m-L-1} c_k B_k(t, \tau). \quad (2.64)$$

La notación  $B_k(t, \tau)$ , se usa para indicar el valor en  $t$  para la función base B-spline definida por la secuencia de puntos de corte  $\tau$ , y  $k$  indica el número del mayor nodo en o inmediatamente a la izquierda de  $t$ .



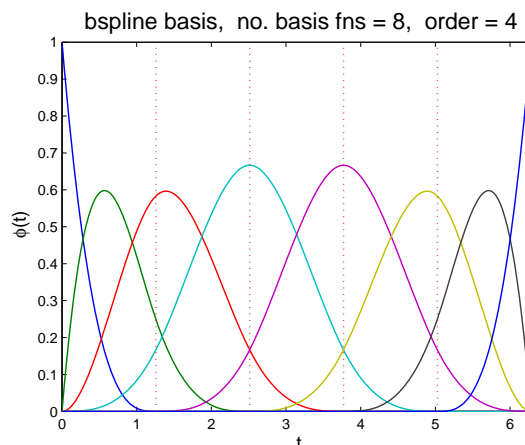


Figura 2.25: Representación de 8 funciones base definiendo un spline de orden 4 con 4 nodos interiores.

**Otras Bases de funciones.** No debemos, sin embargo, olvidarnos de una serie de otros posibles sistemas de base importantes [5]. Como son:

- Base de polinomios:  $\Phi_k(t) = (t - \omega)^k$ ,  $k = 0, \dots, K$
- Exponencial:  $\phi_k(t) = e^{\alpha_k t}$
- Wavelets:  $\psi_{jk}(t) = 2^{j/2} \psi(2^j t - k)$ ,  $j, k \in \mathbb{Z}$

**Métodos de suavizado.** Cuando se tienen datos de una variable en  $n$  sitios de una región con continuidad espacial, implícitamente en cada uno de ellos hay una observación funcional. Entonces, empleando técnicas de suavizado, los valores así encontrados pueden convertirse en un dato funcional.

**Suavizado de datos funcionales con Penalización de la Irregularidad.** Éste es uno de los métodos más robustos para la aproximación de datos discretos por una función. La penalización de irregularidad o regularización es uno de los métodos que mejor se adapta a los problemas generales que ocurren en el análisis de datos funcionales, obtenemos mejores resultados, especialmente en el cálculo de las derivadas.

La regularización se basa en la declaración explícita de lo que es una representación suave, que se incluye en el criterio a optimizar. Proporciona un control más fino sobre la suavidad del ajuste. En este método, podemos usar más funciones base que valores observados y mantener suavidad. Sin regularización, un ajuste suave suele suponer el sacrificar variaciones en ciertos lugares importantes.

Un caso particular de suavizado por regularización, es el **Suavizado spline** que introduciremos a continuación. La regularización se considera un equilibrio entre regularidad y bondad de ajuste a los datos. Para la estimación mediante el método de suavizado spline de una curva  $x$  para las observaciones  $y_j = x(t_j) + \epsilon_j$ , tendremos en cuenta dos objetivos:

1. Asegurar el ajuste de los datos, por ejemplo en términos de la suma de cuadrados del error:

$$\sum_j [y_j - x(t_j)]^2 \quad (2.65)$$

2. Imponer suavidad, si la curva no es excesivamente variable localmente.

Una medida de irregularidad es la integración del cuadrado de la segunda derivada, a la que se le denomina *curvatura* de  $x$  en  $t$ ,

$$PEN_2(x) = \int [D^2x(s)]^2 ds \quad (2.66)$$

Definiremos la penalización de la suma de cuadrados del error como:

$$PENSSSE_\lambda(x|\mathbf{y}) = \sum_j [y_j - x(t_j)]^2 + \lambda PEN_2(x), \quad (2.67)$$

El calculo de la función se obtendrá ajustando la función  $x$  que minimice  $PENSSSE_\lambda(x)$  sobre el espacio de funciones para el que  $PEN_2(x)$  esté definida.

$\lambda$  es un parámetro de suavizado donde:

- Si  $\lambda$  es grande ( $\lambda \rightarrow \infty$ ), el ajuste de la curva  $x$  se aproximará a una regresión lineal, donde  $PEN_2(x) = 0$ . La irregularidad está muy penalizada.
- Si  $\lambda$  es pequeña, la curva tiende a ser más variable, y como  $\lambda \simeq 0$ , la curva  $x$  se aproximará a una curva interpoladora, que satisface  $x(t_j) = y_j$  para todo  $j$ .

La técnica más usual, es el *suavizado spline cúbico*, usa B-splines de orden 4 como funciones base y nodos en los puntos muestrales, aunque si el número de puntos muestrales es muy elevado, se aconseja rebajar el número de nodos, por razones computacionales.

**Cálculo de suavizado spline.** Recordamos que nuestro objetivo es el ajuste de las observaciones  $y_j$ ,  $j = 1, \dots, n$  usando el modelo  $y_j = x(t_j) + \epsilon_j$ , para ello utilizamos una expansión lineal de funciones bases para  $x(t)$  de la forma:

$$x(t) = \sum_{k=1}^K c_k \phi_k(t) = \mathbf{c}' \phi(t) \quad (2.68)$$

El vector  $\mathbf{c}$  de longitud  $K$  contiene los coeficientes  $c_k$  y  $\phi$  el  $K$ -vector de las funciones base. Definiremos una matriz  $\Phi$  conteniendo los valores de las  $K$  funciones base para los  $n$  puntos de la muestra, con lo que en el caso de no penalización de la irregularidad, o sea, un ajuste de mínimos cuadrados ponderados, la estimación de  $\mathbf{c}$  sería:

$$\hat{\mathbf{c}} = (\Phi' \mathbf{W} \Phi)^{-1} \Phi' \mathbf{W}' \mathbf{y}, \quad (2.69)$$

donde  $\mathbf{W}$  es una matriz de peso para permitir la posible estructura de covarianza entre los residuos, y donde  $\mathbf{y}$  es el vector de datos discretos que queremos suavizar. Luego la expresión para el vector de ajuste a los datos viene dada por,

$$\hat{\mathbf{y}} = \mathbf{S}_\phi \mathbf{y}, \quad (2.70)$$

donde  $\mathbf{S}_\phi$  es el operador de proyección,

$$\mathbf{S}_\phi = \Phi(\Phi' \mathbf{W} \Phi)^{-1} \Phi' \mathbf{W} \quad (2.71)$$

correspondiente al sistema de la base  $\phi$ .

Ahora renombraremos la penalización de la irregularidad  $PEN_m(x)$  en términos matriciales, de la siguiente forma,

$$\begin{aligned} PEN_m(x) &= \int [D^m x(s)]^2 ds \\ &= \int [D^m \mathbf{c}' \phi(s)]^2 ds \\ &= \int \mathbf{c}' D^m \phi(s) D^m \phi'(s) \mathbf{c} ds \\ &= \mathbf{c}' \left[ \int D^m \phi(s) D^m \phi'(s) ds \right] \mathbf{c} \\ &= \mathbf{c}' \mathbf{R} \mathbf{c} \end{aligned} \quad (2.72)$$

donde

$$\mathbf{R} = \int D^m \phi(s) D^m \phi'(s) ds \quad (2.73)$$

Añadiendo la suma de cuadrados del error  $SSE(y|\mathbf{c})$  y  $PEN_m(x)$  multiplicada por un parámetro de suavizado  $\lambda$ , obtenemos

$$PENSSSE_m(\mathbf{y}|\mathbf{c}) = (\mathbf{y} - \Phi \mathbf{c})' \mathbf{W} (\mathbf{y} - \Phi \mathbf{c}) + \lambda \mathbf{c}' \mathbf{R} \mathbf{c} \quad (2.74)$$

Tomando la derivada respecto de  $\mathbf{c}$ ,

$$-2\Phi' \mathbf{W} \mathbf{y} + \Phi' \mathbf{W} \Phi \mathbf{c} + \lambda \mathbf{R} \mathbf{c} = 0 \quad (2.75)$$

Luego:

$$\hat{\mathbf{c}} = (\Phi' \mathbf{W} \Phi + \lambda \mathbf{R})^{-1} \Phi' \mathbf{W} \mathbf{y} \quad (2.76)$$

Así la expresión para el vector de ajuste de datos, en el suavizado spline como operador lineal, se queda como:

$$\hat{\mathbf{y}} = \mathbf{S}_{\phi, \lambda} \mathbf{y} \quad (2.77)$$

donde,

$$\mathbf{S}_{\phi, \lambda} = \Phi(\Phi' \mathbf{W} \Phi + \lambda \mathbf{R})^{-1} \Phi' \mathbf{W} \quad (2.78)$$

Si comparamos esta expresión con 2.71, vemos que la única diferencia es el añadido de  $\lambda \mathbf{R}$  a la matriz de productos cruzados  $\Phi' \mathbf{W} \Phi$  antes del cálculo de la inversa, y que los dos operadores son idénticos si  $\lambda = 0$ . El operador general 2.78 lo denominaremos como operador *sub-proyección*, porque a diferencia del operador proyección, aquel no satisface la propiedad de idempotencia, es decir,

$$\mathbf{S}_{\phi, \lambda} \mathbf{S}_{\phi, \lambda} \neq \mathbf{S}_{\phi, \lambda}. \quad (2.79)$$

Es también muy útil el filtro lineal definido por el proceso de suavizado para el cálculo de la aceleración. Sea  $\Phi^{(2)}$  la matriz que contiene los valores de la segunda derivada de las funciones base evaluadas en los puntos de la muestra,  $\Phi^{(2)} = D^2 \phi_k(t_j)$ , y  $\hat{\mathbf{y}}^{(2)}$  el vector con las estimaciones de la aceleración. Entonces,

$$\hat{\mathbf{y}}^{(2)} = \Phi^{(2)} (\Phi' \mathbf{W} \Phi + \lambda \mathbf{R})^{-1} \Phi' \mathbf{W} \mathbf{y} \quad (2.80)$$

El procedimiento de suavizado spline, puede extenderse y tener otras medidas de ajuste y penalización muy importantes sobre todo en las aplicaciones. Algunas de ellas son:

- Medidas de ajuste más generales, en lugar de suma de cuadrados de residuos.  
Por ejemplo, si tenemos un modelo para las observaciones  $y_j$  y podemos tener la log-verosimilitud de  $x$ , podríamos considerar maximizar  $\{\log \text{verosimilitud} x - \lambda \text{PEN}_2(x)\}$
- Penalizaciones de irregularidad más generales, si deseamos estimar derivadas, por ejemplo de orden  $m$ , debería penalizarse dos derivadas más altas. Ej:  $D^2 x$

$$\text{PEN}_4(x) = \int (D^4(x(s)))^2 ds = \|D^4 x\|^2 \quad (2.81)$$

También podría tenerse en mente que  $x$  cumpliera una cierta ecuación diferencial:

$$\text{PEN}_L(x) = \int [(Lx)^2](t) dt = \|Lx\|^2 \quad (2.82)$$

donde  $Lx = w_0 x + w_1 Dx + \dots + w_{m-1} D^{m-1} x + D^m x$  es un operador diferencial lineal, y  $w_j$  deben ser constantes o funciones  $w_j(t)$ .

**Elección del parámetro de suavizado  $\lambda$ . Método de validación cruzada.** La idea básica es, parte de los datos se usa para ajuste y el resto de los datos para evaluar dicho ajuste.

Es una técnica versátil para la elección de un parámetro de suavizado. Un caso particular es la técnica *leave-one-out* (o dejar uno fuera), la cual implica el adoptar una situación extrema dejando una observación fuera de la muestra, y ajustando el resto, entonces se estima el valor ajustado para el dato no considerado y el error cometido. El procedimiento se repite para cada observación, y se suma para todos los valores. Este procedimiento se repite para distintos  $\lambda$ , y elegimos el que proporciona el mínimo error (notar: otras veces, en lugar de dejar uno fuera, se dejan 10, o un cierto porcentaje de la muestra, etc.)

Este método tiene dos problemas, el primero es que tiene un elevado coste computacional, y el segundo es que suele favorecer el ajuste de variaciones de altas frecuencias, que se preferirían ignorar.

**Método de validación cruzada generalizada GCV.** Desarrollado por Craven y Wahba (1979) [152], se desarrolló originalmente como una versión más sencilla de la validación cruzada, que evita el resuavizar  $n$  veces. Y ha resultado mucho más fiable, ya que tiene menos tendencia que la validación cruzada al infra-suavizado. El criterio viene expresado como:

$$GCV(\lambda) = \frac{n^{-1}SSE}{[n^{-1}\text{traza}(\mathbf{I} - \mathbf{S}_{\phi,\lambda})]^2}, \quad (2.83)$$

donde  $\mathbf{S}_{\phi,\lambda}$  viene dado por la expresión 2.78.

Otro método de suavizado muy utilizado, es el criterio de ajuste por mínimos cuadrados, caso particular cuando  $\lambda = 0$  en la penalización de la irregularidad.

**Registro o normalización de datos funcionales.** Ahora podemos asumir que nuestras observaciones están en forma funcional, y procederemos a considerar métodos para su análisis. Pero todavía tenemos algunos problemas importantes para los datos funcionales, que necesitan una solución. Los valores de  $x_i(t_j)$  pueden diferir en:

- Variación en amplitud: para un tiempo dato  $t$  los valores de las distintas funciones son distintos.
- Variación de fase: las funciones  $x_1$  y  $x_2$  no debieran de ser comparadas en los mismos instantes temporales.

Con frecuencia vemos que la variación en las observaciones funcionales implican tanto la fase como la amplitud, y esto nos puede acarrear muchos problemas. Así pues pondremos especial énfasis en el registro de los datos, transformando los argumentos  $t$  en lugar de los valores  $x(t)$ .

Existen distintos procedimientos de registro.

Sea  $\mathcal{T} = [T_1, T_2]$  el intervalo sobre el que pretendemos registrar las funciones. También supondremos que las funciones están definidas en un intervalo mayor que contiene a  $\mathcal{T} = [T_1, T_2]$ .

**Registro mediante puntos característicos.** El registro mediante puntos característicos, requiere que cada curva  $x_i$  tenga  $t_{i,f}$ ,  $f = 1, \dots, F$  asociados a  $F$  características *unívocamente definidas*. El objetivo es la construcción de una transformación  $h_i$  que llamaremos función *warping* o deformante, para cada curva tal que,

$$x^*(t) = x_i[h_i(t)] \quad (2.84)$$

tenga valores muy parecidos en los *puntos característicos* para cualquier  $i$ .

Lo que se pretende es estimar funciones  $h_i$  estrictamente crecientes y suaves (diferenciables hasta un cierto orden) y que verifiquen algún criterio.

Una de las transformaciones más simples, es el llamado registro "Shift" (o de desplazamiento). Éste está basado en una traslación, donde  $h_i(t) = t + \delta_i$

$$x_i^* = x_i(t + \delta_i) \quad (2.85)$$

donde  $\delta_i$  es el retraso o adelanto de la  $i$ -ésima réplica o prueba que realizamos (que elegiremos para alinear las curvas, de forma apropiada). Otra transformación que también se suele utilizar, es la transformación lineal donde  $h_i(t) = (t + \delta_i)\beta_i$  con  $\beta_i > 0$ . Pero genéricamente asumiremos  $h_i(t) = h_i(t|\gamma_i)$  siendo  $\gamma_i$  un vector de parámetros.

Para la estimación de la transformación, utilizaremos el *método Procrustes* iterativamente según el siguiente procedimiento:

1. Calculamos la media de las funciones como

$$\hat{\mu} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i(t)}{n} \quad (2.86)$$

2. Determinamos los  $\gamma_i$  que minimizan la siguiente función utilizando Newton-Raphson ([5], capítulo 7)

$$REGSSE = \sum_{i=1}^N \int_{\mathcal{T}} [x_i(h_i(t|\gamma_i)) - \hat{\mu}(s)]^2 ds \quad (2.87)$$

Repetiremos el paso 1 hasta la convergencia.

En lugar del criterio *REGSSE* que podría considerarse el más inmediato, otro criterio se ha mostrado más eficaz y se basa en la minimización del segundo mayor valor propio de una cierta matriz de productos cruzados [5]. De hecho, este es el criterio por defecto de la librería *fda* (<http://www.funionaldata.org>)

## 2.7. Análisis Discriminante Lineal

El análisis discriminante puede considerarse una técnica multivariante de clasificación de individuos en la que se presupone la existencia de dos o más grupos bien definidos a priori (por ejemplo, sujetos sanos y sujetos con una patología, etc.), y se persigue los siguientes objetivos:

1. Describir las diferencias existentes entre esos grupos en base a los valores que toman ciertas variables sobre los individuos de cada uno de los grupos.
2. Elaborar una regla de decisión que permita asignar una nueva observación de origen desconocido  $x'_0 = (x_{01}, \dots, x_{0p})$ , a uno de los grupos analizados.
3. Analizar qué variables de las consideradas influyen en la diferenciación de los grupos.

El problema de clasificación o discriminación entre los  $q$  grupos se realiza mediante el cálculo de unas funciones matemáticas denominadas *funciones discriminantes*,  $f_k = g_k(x_1, \dots, x_p)$ , de forma que la decisión se toma a partir del valor de  $f_k = g_k(x_{01}, \dots, x_{0p})$ .

### 2.7.1. Discriminación lineal de Fisher

El procedimiento de Fisher se basa en encontrar unas variables, combinaciones lineales de las variables clasificadoras  $D_k = u_{1k}x_1 + u_{2k}x_2 + \dots + u_{pk}x_p = \mathbf{u}'_k \mathbf{x}$ , de forma que en el espacio

donde proyectamos, las medias de los grupos estén lo más separadas posibles y a su vez, las observaciones de un mismo grupo lo más cercanas posibles.

Caso particular:  $q=2$  (en este caso nos basamos en una sola función discriminante).

Sean  $\{d_{gk}, k = 1, \dots, n_g; g = 1, 2\}$  los valores de la variable  $D$  en cada uno de los grupos, siendo  $n_g$  el número de observaciones en el grupo  $g$ .

Sean  $\bar{d}_1, \bar{d}_2$  las medias muestrales de la variable  $D$  en cada grupo y  $\bar{d}$  la media de la variable  $D$ . El procedimiento de Fisher determina el vector  $\mathbf{u}$  que maximiza el cociente:

$$\frac{(\bar{d}_2 - \bar{d}_1)^2}{[\sum_{g=1}^2 \sum_{j=1}^{n_g} (d_{gj} - \bar{d}_g)^2]/(n-2)}, \quad (2.88)$$

usando las propiedades de las transformaciones lineales en la varianza y la media, esto es equivalente a maximizar

$$\frac{(u'(\bar{x}_2 - \bar{x}_1))^2}{[u' \sum_{g=1}^2 \sum_{j=1}^{n_g} (x_j^g - \bar{x}_j^g)(x_j^g - \bar{x}_j^g)'u]/(n-2)}, \quad (2.89)$$

Así, denotaremos la matriz *suma de cuadrados intra-grupo* a

$$W = \frac{\sum_{g=1}^2 \sum_{j=1}^{n_g} (x_j^g - \bar{x}_j^g)(x_j^g - \bar{x}_j^g)'}{n-2} \quad (2.90)$$

Derivando e igualando a cero:

$$\begin{aligned} 0 &= \frac{2u'(\bar{x}_2 - \bar{x}_1)(\bar{x}_2 - \bar{x}_1)'u'Wu - 2Wu(u'(\bar{x}_2 - \bar{x}_1))^2}{(u'Wu)^2} \\ u &= \frac{u'Wu}{u'(\bar{x}_2 - \bar{x}_1)} W^{-1}(\bar{x}_2 - \bar{x}_1) \end{aligned} \quad (2.91)$$

Notar que  $u$  representa una dirección, ya que el cociente a maximizar es invariante ante multiplicaciones de  $u$  por una constante. Así, podemos tomar

$$\begin{aligned} \frac{u'Wu}{u'(\bar{x}_2 - \bar{x}_1)} &= 1 \\ \Rightarrow u &= W^{-1}(\bar{x}_2 - \bar{x}_1) \end{aligned} \quad (2.92)$$

Así pues para una nueva observación  $x_0$ :

- Calculamos  $d_0 = u'x_0$
- Clasificamos en el grupo tal que su media transformada esté más cerca (en distancia euclídea en  $\mathbb{R}$ ) de  $d_0$

Notar que si  $W^{-1} = I$  (las variables están incorreladas y estandarizadas), la dirección de proyección es la definida por la diferencia de medias.

Veamos otra interpretación:

La observación  $x_0$  la clasificamos en  $g=1$  (lo denotaremos como  $G_1$ , y  $G_2$  para  $g=2$ ) si

$$(u'x_0 - u'\bar{x}_1)^2 < (u'x_0 - u'\bar{x}_2)^2 \quad (2.93)$$

Si  $u'\bar{x}_2 > u'\bar{x}_1$  clasificamos en  $G_1$  si

$$u'x_0 < u'(\bar{x}_2 + \bar{x}_1)/2 \quad (2.94)$$

Es decir, esta regla divide el conjunto de posibles valores de  $x$  en dos regiones, cuya frontera viene dada por

$$u'x_0 = u'(\bar{x}_2 + \bar{x}_1)/2 \quad (2.95)$$

A la variable transformada  $D$  se le denomina **variedad canónica**.

**Enfoque estadístico.** Si conocemos las probabilidades *a priori*  $\pi_1, \pi_2$ , con  $\pi_1 + \pi_2 = 1$ , de que el elemento venga de cada una de las dos poblaciones, su distribución de probabilidad será una distribución mezclada

$$f(\mathbf{x}) = \pi_1 f_1(\mathbf{x}) + \pi_2 f_2(\mathbf{x}) \quad (2.96)$$

siendo  $f_1, f_2$  las funciones de densidad de ambas poblaciones, ya conocidas. Luego una vez observado  $x_0$ , podemos calcular las probabilidades *a posteriori* de que el elemento haya sido generado por cada una de las dos poblaciones. Estas probabilidades se calculan por el teorema de Bayes

$$\begin{aligned} P(G_1|x_0) &= \frac{f_1(x_0)\pi_1}{f_1(x_0)\pi_1 + f_2(x_0)\pi_2} \\ P(G_2|x_0) &= \frac{f_2(x_0)\pi_2}{f_1(x_0)\pi_1 + f_2(x_0)\pi_2} \end{aligned} \quad (2.97)$$

Clasificamos el nuevo elemento en aquella población cuya probabilidad *a posteriori* sea mayor, como los denominadores son iguales, clasificamos el nuevo elemento en  $G_1$  si,

$$f_1(x_0)\pi_1 > f_2(x_0)\pi_2 \quad (2.98)$$

Suponemos que  $f_1$  y  $f_2$  corresponden a distribuciones normales  $N(\mu_1, \Sigma)$  y  $N(\mu_2, \Sigma)$  y que queremos clasificar un elemento  $x_0$ , que si pertenece a la población  $g = 1, 2$  tiene una densidad:

$$f_g(x) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2}|\Sigma|^{1/2}} \exp\left\{-\frac{1}{2}(x_0 - \mu_g)'\Sigma^{-1}(x_0 - \mu_g)\right\} \quad (2.99)$$

De acuerdo con lo anterior, la decisión es clasificar en  $G_1$  si cumple la Ec. 2.98. Como ambos términos son positivos, tomando logaritmos y sustituyendo  $f_g(x_0)$  por su expresión, la Ec. 2.98 se convierte en:

$$-\frac{1}{2}(x_0 - \mu_1)'\Sigma^{-1}(x_0 - \mu_1) + \log \pi_1 > -\frac{1}{2}(x_0 - \mu_2)'\Sigma^{-1}(x_0 - \mu_2) + \log \pi_2 \quad (2.100)$$

Desarrollando y simplificando lo que es común en ambos miembros, quedan solo términos lineales en  $x_0$ , y lo clasificamos en  $G_1$  si:

$$(\mu_2 - \mu_1)'\Sigma^{-1}x_0 < (\mu_2 - \mu_1)'\Sigma^{-1}\frac{1}{2}(\mu_1 + \mu_2) + \log \frac{\pi_2}{\pi_1} \quad (2.101)$$



En el caso particular en que  $\pi_2 = \pi_1$  si llamamos  $u = \Sigma^{-1}(\mu_2 - \mu_1)$ , clasificamos en  $G_1$  si:

$$u'x_0 < u'(\mu_1 + \mu_2)/2 \quad (2.102)$$

O lo que es equivalente, si

$$u'x_0 - u'\mu_1 < u'\mu_2 - u'x_0 \quad (2.103)$$

Obtenemos una regla de decisión casi idéntica a la obtenida por el método Fisher, la diferencia está en que en este caso suponemos la matriz de varianza-covarianza dentro de cada población y las medias conocidas. Como en la práctica esto no es habitual, probablemente las tendremos que estimar de los datos:

$$\begin{aligned} \hat{\mu}_g &= \bar{x}_g \\ \hat{\Sigma} &= \frac{\sum_{g=1}^2 \sum_{j=1}^{n_g} (x_j^{(g)} - \bar{x}_g)(x_j^{(g)} - \bar{x}_g)'}{n - 2} = W \end{aligned} \quad (2.104)$$

Con lo que obtendríamos la misma regla de clasificación.

Luego, la Ec. 2.103 indica que el procedimiento para clasificar un elemento  $x_0$  puede resumirse como sigue:

1. Calcular el vector  $u$
2. Construir la variable indicadora discriminante:

$$z = \mathbf{u}'\mathbf{x} = u_1x_1 + \dots + u_px_p \quad (2.105)$$

que transforma la variable multivariante  $\mathbf{x}$  en la variable escalar, que es una combinación lineal de los valores de la variable multivariante con coeficientes dados por el vector  $\mathbf{u}$ .

3. Calcular el valor de la variable indicadora para el individuo a clasificar,  $\mathbf{x}_0 = (x_{10}, \dots, x_{p0})$ , con  $z_0 = \mathbf{u}'\mathbf{x}_0$  y el valor de la variable indicadora para las medias de las poblaciones,  $m_i = \mathbf{u}'\mu_i$ . Clasificar en aquella población donde la distancia  $|z_0 - m_i|$  sea mínima.

### Caso general

Para q cualquiera podemos encontrar  $r = \min\{p, q - 1\}$  funciones discriminantes, basadas en  $r$  variedades canónicas  $D_k$ ,  $k = 1, \dots, r$  y que permitan resolver el problema de la clasificación de la forma siguiente:

- Proyectamos las medias de las variables de los grupos sobre el espacio determinado por las  $r$  variedades canónicas.
- Proyectamos el punto  $x_0$  a clasificar
- Clasificamos el punto en el grupo tal que su media transformada esté más cerca (en distancia euclídea).

Para obtener todas las variedades canónicas empecemos buscando la primera,  $D_1 = \mathbf{u}'_1 \mathbf{x}$ . Sean  $\{d_{gk}, k = 1, \dots, n_g; g = 1, \dots, q\}$  los valores de la variable  $D_1$  y  $\{\bar{d}_g; g = 1, \dots, q\}$  las medias muestrales de la variable  $D_1$ , en cada uno de los  $q$  grupos, y  $\bar{d}$  la media global. Luego, buscamos el vector  $u_1$  que maximiza el cociente:

$$\frac{[\sum_{g=1}^q n_g (\bar{d}_g - \bar{d})^2]/(q-1)}{[\sum_{g=1}^q \sum_{j=1}^{n_g} (d_{gj} - \bar{d}_g)^2]/(n-q)}, \quad (2.106)$$

usando las propiedades de las transformaciones lineales en la varianza y la media, esto es equivalente a maximizar:

$$\phi = \frac{u'_1 B u_1}{u'_1 W u_1} \quad (2.107)$$

donde  $W$  es la matriz de *suma de cuadrados intra-grupos* y  $B$  es la matriz de *suma de cuadrados inter-grupos* definida como,

$$B = \sum_{g=1}^q \sum_{j=1}^{n_g} n_g (\bar{x}_g - \bar{x})(\bar{x}_g - \bar{x})' \quad (2.108)$$

Derivando e igualando a cero como en la Ec.2.91, llegamos a  $Bu_1 = \phi W u_1$  y suponiendo  $W$  no singular, esto implica que  $u_1$  ha de ser vector propio de  $W^{-1}B$  y como  $\phi$  es lo que queremos maximizar será el asociado al mayor valor propio de esta matriz.

Para obtener la segunda variedad canónica nos planteamos la misma maximización, pero exigiendo además que esta segunda variedad esté incorrelada con la primera. Puede demostrarse análogamente que esto se obtiene si tomamos el vector propio asociado al segundo mayor valor propio de  $W^{-1}B$ .

En general, si se quiere calcular  $r$  funciones discriminantes, se obtienen como soluciones los  $r$  vectores propios de  $W^{-1}B$  asociados a los  $r$  mayores valores propios de esta matriz  $\lambda_1 \geq \dots \geq \lambda_r > 0$ .

Notar que el rango de la matriz  $W^{-1}B$  es, a lo más  $\min\{q-1, p\}$ , puesto que el rango de  $W^{-1}$  es  $p$ ,  $B$  es una suma de  $q$  matrices de rango 1 y que además cumplen una relación lineal entre ellas, y que el rango del producto es menos o igual a los rangos de cada una. Por tanto, el número máximo de variedades canónicas (o funciones discriminantes) que se podrán calcular será igual a  $\min\{q-1, p\}$ .

Notar también que los valores propios  $\{\lambda_i; i = 1, \dots, r\}$  miden el poder de discriminación de la  $i$ -ésima función discriminante, de forma que si  $\lambda_i = 0$ , la función discriminante no tiene ningún poder discriminante. Así pues, no necesitaríamos todas las variedades canónicas para discriminar.

## 2.8. Discriminación de datos funcionales

Uno de los problemas a tratar es el de la discriminación de curvas, donde se trata de clasificar los objetos, que en este caso son las observaciones funcionales. Si tenemos  $K$  tipos diferentes de curvas, el objetivo es la clasificación de una nueva función (observación) en uno de los  $K$  tipos.

La discriminación de curvas surge en muchos contextos y es un problema importante, un claro ejemplo es la discriminación de señales (el cual ha sido considerado en innumerables artículos),

por ejemplo, el reconocimiento del habla [153, 154]. Otras aplicaciones interesantes de la discriminación, sería el diagnóstico médico mediante las medidas de EEG en las diferentes localizaciones de la zona cortical ([155]).

Cuando tenemos muchos predictores altamente correlacionados, como los obtenidos por la discretización de una función, las herramientas clásicas como el análisis de discriminación lineal de Fisher (*LDA*) puede fallar. Para esto, se han propuesto diferentes soluciones. Por ejemplo, Hastie et al. (1995) [153] solventó este problema mediante una versión regularizada de *LDA* llamado “análisis discriminante penalizado” (*PDA*), Marx y Eilers (1999) [156] propusieron una aproximación al modelo de regresión lineal generalizado, y Ferraty y Vieu (2003) [157] propusieron una herramienta no paramétrica, calculando la probabilidad de pertenecer a una determinada clase de funciones usando un estimador kernel consistente. Cuando solo se observan fragmentos de la curva, podemos usar la técnica introducida por James y Hastie (2001) [158].

Los recientes avances en la clasificación de datos funcionales vienen recogidos en los siguientes artículos. Estos artículos están estrechamente relacionados con el método propuesto, y todos implican un tipo de preprocesado (algunas veces implícito) de los datos funcionales. Rossi y Conan-Guez(2005) [159] y Conan-Guez y Rossi (2004) [160] propusieron el uso de redes neuronales para la regresión no lineal y la clasificación de datos funcionales (véase [161]); James y Silverman (2005) [162] estudiaron el modelo de regresión no lineal para descriptores funcionales (véase [163] para algunas extensiones más simples y sencillas del modelo funcional lineal por el mismo autor); Biau et al. (2005) [164] estudió los clasificadores al  $k$ -vecino más cercano para datos funcionales, lo que dio interesantes resultados teóricos (véase también el trabajo de Berlinet et al. (2008) [165] y relacionado con el trabajo teórico de Fromont y Tuleau (2006) [166]); Rossi y Villa (2006) [167] utilizaron máquinas de vectores de soporte (*SVM*) para la clasificación de datos funcionales; Ferré y Villa (2005) [168] estudiaron una aproximación donde los datos funcionales son descritos mediante una proyección a una base óptima (usando regresión inversa), y posteriormente lo utilizaron en redes neuronales ([169]). Finalmente, López-Pintado y Romo (2006) [170] introdujeron un enfoque diferente, donde proponían procedimientos robustos basados en el concepto de profundidad para clasificar curvas.



## Capítulo 3

# MARCO EXPERIMENTAL

### 3.1. Objetivos de la investigación

El objetivo general de esta tesis es proporcionar al campo de la neuroimagen diferentes metodologías, para el análisis tanto de imágenes estructurales como funcionales adquiridas en RM. Se pretende contribuir de forma original a los modelos de “statistical learning” en aprendizaje no-supervisado mediante la implementación de ICA, y *FDA*. A partir de aquí se introducen nuevas aproximaciones de clasificación de grupos, para el diagnóstico precoz para la patología de la EA, seleccionando una determinada estructura cerebral en las imágenes adquiridas mediante RMe. Estos análisis se llevarán a cabo en los estudios detallados en las secciones I y II. Por otro lado, se utilizará el ICA para la clasificación de la señal BOLD cerebral en redes neuronales, para la evaluación de la plasticidad cerebral asociada a un proceso de aprendizaje, a partir de la combinación de imágenes de RMf basada en tarea y imágenes de RMf en estado de reposo. Este tercer estudio, detallado en la sección III, introduce una nueva aproximación para los análisis de RMf, aplicando diferentes modelos estadísticos entre los que destacamos el modelo lineal general, análisis de correlación lineal e ICA.

Los objetivos específicos para cada estudio son detallados a continuación:

- Los dos primeros estudios de esta tesis, se basan en las imágenes obtenidas mediante **RMe** para el estudio del cerebro a nivel anatómico en la patología de la EA. En el marco del diagnóstico precoz de la EA durante su evaluación preclínica se han propuesto distintas entidades diagnósticas, entre las que destaca por su utilidad clínica el DCL [30, 171]. Se calcula que cada año el 12% de los pacientes diagnosticados con DCL progresan a EA, por lo que esta entidad es un importante sistema de detección de la demencia. Estudios longitudinales muestran una relación directa entre reducción de volumen hipocampal y el deterioro cognitivo [172, 173]. La volumetría de RM, es una técnica, que como su propio nombre indica, mide el volumen de las estructuras cerebrales en las imágenes de RMe de alta resolución. Pero la volumetría es una característica simple en la que no podemos observar los cambios estructurales en una localización específica de la estructura cerebral a estudiar, en nuestro caso el hipocampo. Por ello planteamos un estudio más exhaustivo del problema intentando entender qué cambios estructurales se producen en el proceso del deterioro cognitivo observado en los pacientes de EA, mediante un análisis de forma, en

lugar de un análisis de volumen como se había hecho hasta el momento [31, 32]. El análisis de forma es un campo donde las **funciones** son frecuentemente usadas para representar la forma [174]. Los análisis de forma los dividiremos en dos estudios donde realizaremos un tratamiento de imagen bidimensional (2D) y tridimensional (3D):

1. En el **Estudio 1**, se usa FDA para imágenes 2D. Según Stoyan y Stoyan (1994) [175], las formas pueden ser descritas mediante tres métodos: morfología matemática de conjuntos, usando puntos de referencia ("landmarks") y empleando una función que describa los contornos. Dado esto, estudiaremos estas tres aproximaciones descritas por Stoyan y Stoyan (1994) con una conocida base de datos de huesos, en los dos principales problemas para la estadística de la forma: el estudio de las principales fuentes de variación entre formas (PCA) y la clasificación entre diferentes clases (análisis discriminante). En este estudio, introduciremos la metodología de ICA para el caso de datos funcionales multivariantes con un único argumento. Epifanio (2008) [176] demostró que ICA para casos univariantes proporcionaba muy buenos resultados obteniendo una exitosa clasificación de curvas univariantes. Extenderemos esta aproximación al caso multivariante, y compararemos estos resultados con los resultados existentes en la literatura previa.

El primer objetivo de este estudio es marcar las ventajas del estudio de FDA en análisis de imagen y obtener una mejor aproximación del análisis de forma para la clasificación, usando ICA en lugar de PCA. Por lo tanto, se desarrollará la metodología para la base de datos de huesos de Stoyan y Stoyan (1994) [175] conocida, comparando sus resultados en los dos principales problemas para la estadística de la forma con los obtenidos con la nueva metodología desarrollada en este estudio. También se introducirá una función discriminante basada en ICA para la mejora de la clasificación de datos funcionales. El segundo objetivo, es la implementación de esta nueva metodología en las imágenes de RMe para estudiar las diferencias hipocampales entre los sujetos de tres grupos: sujetos sanos, pacientes con DCL y pacientes con EA. Y aplicar la propuesta función discriminante basada en ICA para la clasificación de los tres grupos, con la finalidad de encontrar que zona (corte) del hipocampo es el de mayor discriminación en la patología de EA (valor máximo absoluto de la función discriminante lineal).

2. En el **Estudio 2**, se emplea FDA en imágenes 3D. Existen diversas aproximaciones para modelar las formas ("shape model", en inglés), habiendo sido varias de ellas en el campo de la neuroimagen [177, 178, 179, 180, 181]. En este estudio, en lugar de usar modelos no-paramétricos como los que utilizan en las referencias previas, utilizaremos la representación de esféricos armónicos (**SPHARM**). Esta es una aproximación paramétrica que ha proporcionado muy buenos resultados en modelos de estructuras subcorticales [182, 183, 184, 185, 186, 187, 188], en la que cada superficie individual, en nuestro caso la superficie del hipocampo, es parametrizada por el conjunto de coeficientes que ponderan las funciones base. La representación de esféricos armónicos es un caso particular de representación de datos funcionales como funciones suavizadas. Además, se introducirá una función discriminante basada en ICA para indicar dónde se encuentran las diferencias entre los sujetos de los tres grupos y su nivel de discriminación.

El objetivo de este estudio es implementar esta nueva metodología a la superficie del hipocampo para no solo encontrar que zona del hipocampo es la de mayor discriminación entre los tres grupos, como se hace en el primer estudio, sino encontrar también

las diferencias en la estructura del hipocampo en la progresión de la enfermedad y su nivel de discriminación.

- En el **Estudio 3**, presentamos un estudio basado en imágenes de **RMf**. Tiene como objetivo encontrar una aproximación metodológica en la investigación de la plasticidad cerebral a partir del aprendizaje. Es evidente que la función cerebral, y probablemente de forma especialmente relevante en los procesos de aprendizaje, emerge no de la actuación de las áreas cerebrales de forma independiente, como se había estudiado hasta el momento, sino de la interacción entre las distintas áreas cerebrales que conforman los circuitos neuronales. De hecho, los últimos estudios enfatizan que la función de una región concreta del cerebro nunca podrá ser entendida de forma aislada, sino que se alcanzará cuando se estudie junto con las áreas con las que interacciona durante la ejecución de una conducta (ver sección 2.3). El estudio de la conectividad es, por lo tanto, un componente fundamental para avanzar en el progreso del conocimiento del cerebro y nos permitirá estudiar las variaciones en las relaciones interregionales de forma que se comience a entender el cerebro no como un conjunto de localizaciones que funcionan de forma aislada, sino como un conjunto de estructuras espacialmente separadas que funcionan de forma coordinada. Existen numerosas técnicas para el estudio de la conectividad cerebral (sección 2.4.5.2), de las cuales seleccionaremos aquellas que son capaces de contestar nuestras hipótesis. Frente al estudio de la conectividad del cerebro asociada a tarea, surge el estudio de las redes neuronales vinculadas a la actividad espontánea o intrínseca del cerebro en los llamados *estados de reposo*, redes que parecen tener un papel especialmente relevante en los procesos de aprendizaje. En este estudio combinaremos la actividad asociada a una tarea de aprendizaje, con la conectividad intrínseca de las regiones cerebrales en estado de reposo implicadas en dicho aprendizaje. En esta dirección, seleccionaremos las áreas asociadas a este proceso, es decir, aquellas áreas cerebrales que cambian debidas a un entrenamiento, con el objetivo de detectar las redes cerebrales implicadas y el cambio de su conectividad intrínseca debido al aprendizaje. Con ello, se aportará con esto una nueva visión de análisis para la conectividad funcional en estado de reposo y plasticidad cerebral.

Así, el objetivo de este estudio consiste en desarrollar una metodología para los análisis de conectividad funcional en estado de reposo, capaz de interpretar la plasticidad cerebral debida al aprendizaje. Para ello se llevarán a cabo los análisis vóxel-semilla de los datos de RMf en estado de reposo dirigidos por la RMf basada la tarea. Además, se utilizará un análisis de ICA para encontrar que redes cerebrales están involucradas en este proceso y su comportamiento para ayudar a optimizar la ejecución de la tarea.





## Parte I

### Estudio 1:

Functional data analysis in shape  
analysis.

Epifanio I. and Ventura-Campos N.  
*Computational Statistics and Data  
Analysis* [1]



# Functional Data Analysis in Shape Analysis

Irene Epifanio<sup>a,\*</sup>, Noelia Ventura-Campos<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Dept. Matemàtiques, Universitat Jaume I, Campus del Riu Sec, 12071 Castelló, Spain*

<sup>b</sup>*Dept. Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, Spain*

---

## Abstract

Mid-level processes on images often return outputs in functional form. In this context the use of functional data analysis (FDA) in image analysis is considered. In particular, attention is focussed on shape analysis, where the use of FDA in the functional approach (contour functions) shows its superiority over other approaches, such as the landmark based approach or the set theory approach, on two different problems (principal component analysis and discriminant analysis) in a well-known database of bone outlines. Furthermore, a problem that has hardly ever been considered in the literature is dealt with: multivariate functional discrimination. A discriminant function based on independent component analysis for indicating where the differences between groups are and what their level of discrimination is, is proposed. The classification results obtained with the methodology are very promising. Finally, an analysis of hippocampal differences in Alzheimer's disease is carried out.

*Keywords:* Form analysis, Multivariate functional data analysis, Curve classification, Shape discrimination, Principal component analysis, outlines

---

## 1. Introduction

Functional data analysis (FDA) provides statistical procedures for functional observations (a whole function is a datum). The goals of functional data analysis are basically the same as those of any other branch of statistics. Ramsay and Silverman (2005) give an excellent overview. Ferraty and Vieu (2006) provide a complementary and very interesting view on nonparametric

---

\*Tel.: +34-964728390, fax: +34-964728429

*Email address:* epifanio@uji.es (Irene Epifanio)

methods for functional data. The field of FDA is quite new and there is still a lot of work to be done, but in recent years several applications have been developed in different fields (Ramsay and Silverman, 2002). Furthermore, the software that the authors used is available on the website for those books. The wide variety of disciplines where FDA is applied is also shown through the Special Issue on Statistics for Functional Data (González-Manteiga and Vieu, 2007) published in this journal in 2007. Some examples of these fields of application are: climatology, chemicals, geophysics and oceanology, economics, remote sensing, demographics (Delicado, 2011), materials science (Berrendero et al., 2011), biostatistics or genetics (López-Pintado and Romo, 2011; Li and Chiou, 2011). A mixture of practical and theoretical aspects is found in Ferraty and Romain (2011).

Many mid-level processes on images return outputs in functional form, such as granulometries and other morphological curves (Soille, 2003), or spectral-energy descriptors (González et al., 2004, pp. 468). Although FDA techniques are specifically designed to deal with functions and are natural tools for their analysis, FDA has hardly been used in image analysis (to the best of our knowledge, the only article that uses FDA for analyzing 2 dimensional profiles is Nettel-Aguirre (2008)). The reason for this could be because FDA is quite new (the first book on FDA was published in 1997 (Ramsay and Silverman, 2005)), and it is not very well known in the image processing community.

Shape analysis is a field where functions are frequently used to represent shape (Kindratenko, 2003). According to Stoyan and Stoyan (1994), shapes can be described by three kinds of tools: firstly, set descriptors and mathematical morphology tools; secondly, using landmarks (point description); and thirdly, employing a function describing the contours (see Kindratenko (2003) for a review of various contour functions and methods for their analysis).

One of the objectives of this study is to highlight the advantages of the use of FDA in image analysis, and particularly in shape analysis. In Section 2 we analyze a well-known database of bones with these three approaches (the set theory approach, the landmark based approach and the functional approach) and compare their results in two of the main problems in form statistics (Stoyan and Stoyan, 1994): the study of the main sources of variation among the shapes (principal component analysis), and classification among different classes (discriminant analysis). The analysis of contour functions by FDA gives more meaningful results. The contour functions used in Section 2

are multivariate (two functions define the contours). Recently, independent component analysis (ICA) has been successfully used for the classification of univariate curves (Epifanio, 2008). This methodology is extended to the multivariate case in Section 3.2, where a discriminant function based on ICA is also introduced. Discriminant results obtained with this methodology are very promising (in Section 3.2 a small comparative review is also given). Section 4 shows a FDA application in the analysis of magnetic resonance (MR) scans in order to study the hippocampal differences among the subjects of three groups: controls, patients with mild cognitive impairment (MCI), and patients with early AD (Alzheimer's disease). Finally, conclusions and some open problems are discussed in Section 5.

## 2. Shapes through three approaches

In order to compare the three perspectives, we decide to use a well-known and extensively studied database, which is publicly available: the bone shapes from a paleopathology study analyzed in Ramsay and Silverman (2002, Ch. 4). Furthermore, this database has been analyzed previously in the literature using both landmarks and images, so it is perfect for our purposes. A total of 68 outlines were studied, which correspond to 52 non-eburnated and 16 eburnated femora. They considered 12 landmarks (see Shepstone et al. (1999) for details about data and identification and construction of these landmarks)<sup>1</sup>.

Apart from the landmarks, the images from which they were extracted are also available<sup>2</sup> (see Shepstone et al. (2000) for details about the data). As explained in the file, these images are not binary, but they can be easily binarized because the background (zone without bone) is coded as zero. Although there are 121 images in that file, we only consider the images corresponding to the 68 cases available for the landmarks. Each image is rotated so that the 'bottom' of the condyles sits on the bottom of the image (as explained in Shepstone et al. (2000), each femur was rotated in the horizontal plane until the articular surface was parallel with the plane of the camera lens). Furthermore, all left femora were reflected to produce 'right' images

---

<sup>1</sup>available together with the code on website: <http://www.stats.ox.ac.uk/~silverma/fdacasebook/boneshapechap.html>

<sup>2</sup>available on website: <http://www.stats.ox.ac.uk/~silverma/data/bones.tar.gz>

so that the left side of any image indicates the lateral side and the right side the medial.

### 2.1. Landmark description

Each individual outline yields a vector of 24 coordinates (12 landmarks in 2 dimensions). In order to analyze the sample of 68 outlines, we follow the approach explained in Dryden and Mardia (1998, Chapter 5). The library *shapes* (Dryden, 2007) of free software R (R Development Core Team, 2010) provides the routines for this analysis.

Firstly, a generalized Procrustes analysis is carried out to register landmark configurations into optimal registration using translation, rotation and scaling. Note that in Ramsay and Silverman (2002, Chapter 4) an ordinary Procrustes analysis was carried out, where two configurations were matched (each configuration is matched to the original mean configuration). However, we use a generalized Procrustes analysis (*procGPA* with default arguments), which was developed to match configurations when more than two objects are available, as in our case. Therefore, our results do not coincide with those presented in Ramsay and Silverman (2002, Chapter 4). Fig. 1 shows the Procrustes mean shape scaled to unit size. We standardize for size by dividing by the centroid size, which is our measure of size (see Dryden and Mardia (1998, Chapter 2) for details). The centroid size is the square root of the sum of squared distances from each landmark to the centroid.

Secondly, the routine *procGPA* also returns the principal component analysis. To visualize the effect of each principal component (PC) easily, we draw vectors from the mean shape to a shape at +6 standard deviations along the PCs, except for the first PC where we use +2 standard deviation. In Fig. 2 we can see these vectors.

The first four principal components explain 92.76% in total: 84.62%, 3.26%, 2.96% and 1.92% of variability, respectively. There appears to be a high dependence between certain landmarks, as indicated by the fact that the first PC explains such a large proportion of the variability. The first PC includes the movement of many landmarks outwards, whereas there is less movement in the intercondylar notch (landmarks 6, 7 and 8), and especially in landmark 7. On the other hand, the second PC involves a shift inwards for landmarks 6 and 7. The third and fourth PCs show more complex, non symmetrical movement in landmarks.

We are also interested in discovering how arthritic bones differ from controls. In Ramsay and Silverman (2002, Chapter 4), for the principal com-

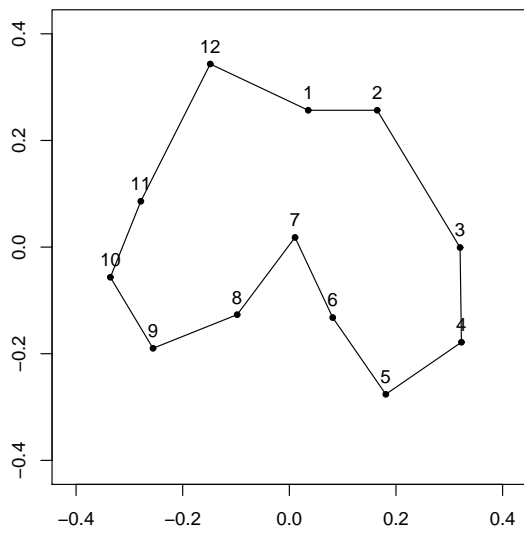


Figure 1: Procrustes mean shape of bones, with 12 landmarks used.

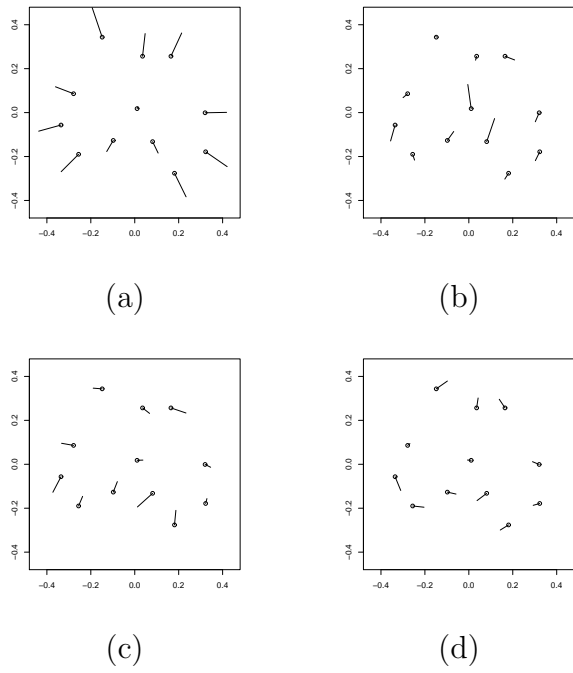


Figure 2: The mean shape with vectors (see text for details) along the first PC (a), the second PC (b), the third PC (c) and the fourth PC (d).



ponent scores, a t-test was carried out to compare the eburnated and non-eburnated bones. As explained in Jolliffe (2002, Chapter 9), PCA can be used in discriminant analysis in order to reduce the dimensionality of the analysis, assuming the covariance matrix is the same for all groups. However, we have to be aware that there is no guarantee that the separation between groups will be in the direction of the high-variance PCs, the separation between groups may be in the directions of the last few PCs. On the other hand, each PCs contribution in linear discriminant analysis can be assessed independently thanks to their uncorrelatedness. We compute all PCs, and we consider only those for which the difference (between eburnated and non-eburnated bones) is significant with  $\alpha = 0.05$ , that is to say, when the p-value of the t-test is less than 0.05.

The difference is only significant on component 3 of 24 (p-value = 0.002). Using leave-one-out cross validation with linear discriminant analysis (lda function from library MASS (Venables and Ripley, 2002)) for the scores of this component, 16 errors are obtained: 2 false positives (non-eburnated bones that are classified as eburnated) and 14 false negatives (eburnated bones that fail to be so classified). If we use component 3 together with component 7, which is the following component with the smallest p-value (0.052), the number of errors is the same (16 errors), with 4 false positive and 12 false negative. Note that this is an underestimation of the true error rate, since we are computing PCA and choosing the components with all samples; even so, this error rate will be worse than those that we will obtain with the other perspectives. This was predictable because more information (not just 12 points) about the shapes will be used in other perspectives.

## 2.2. Set description

Before the analysis of the images, position and size information will be filtered out. Remember that 'left' images have already been reflected, and all them have already been rotated (see Shepstone et al. (2000)). We remove location by translating each image to the origin in such a way that its centroid coincides with the origin. Images are also standardized for size, in the same way as we did with the landmark approach. Scale is removed by dividing through the centroid size. If  $\{\mathbf{X}_j\}$  ( $j = 1, \dots, k$ ) is the set of all the points in each digitalized figure, each point is divided by the centroid size ( $\sqrt{\sum_{j=1}^k \|\mathbf{X}_j - \bar{\mathbf{X}}\|^2}$ , where  $\bar{\mathbf{X}}$  is the average or centroid, and  $\|\cdot\|$  stands for the Euclidean norm).

As shapes are considered as sets, we compute the PCA as explained in Horgan (2000). Here, a variable  $X$ , which can only take value 1 or 0 depending on whether it belongs to the shape or not, is associated with each position of the image. We therefore do PCA for binary data. Note that PCA is equivalent to a Principal coordinate analysis (classical multidimensional scaling) of the matrix of Euclidean distances between the observations (see Horgan (2000) for details). For that reason, according to Gower (1966), PCA can provide a plausible low-dimensional representation when all variables are binary.

The percentages of variance accounted for the first four principal components are 13.62%, 9.47%, 8.37% and 6.22% with a cumulative total of 37.67%. 44 components are necessary in order to capture 90.39% of the variability. The loadings in the first four principal components are represented as grey levels, as done in Horgan (2000), and appear in Fig. 3. Bright grey levels indicate positive loadings, and dark negative ones. An interpretation of them is not easy. As a tentative interpretation: the first component is greatly concentrated on the external part of the condyles, the second component on the right condyle, while the third component is concentrated on left condyle. On the other hand, the fourth component is associated with the joint between condyles and the top part of the image.

For the discriminant analysis, we follow the same strategy as in the landmark approach. We compute all PCs with all data, and we consider only those for which the difference (between eburnated and non-eburnated bones) is significant. Now, five components are significant: 2, 3, 41, 43 and 59. If we compute the misclassification rate by leave-one-out as before, the best classification with one component is obtained by the second component (15 errors, 3 false positive and 12 false negative). If two components are used, the best classification is achieved by components 2 and 3, giving 12 errors (4 false positive and 8 false negative). Although in this approach (and the following) more than two components could be considered jointly, we restrict ourselves to classifying with only two components, for the following reasons: with only two components we try to avoid an overfitted model, and in fact we obtain a simple and parsimonious model which is able to classify with very good results; two components (dimensions) are easier to interpret and represent graphically; considering only pairs is computationally faster than considering all the possible subsets and finally, as only one component is significant in the landmark approach, the use of many more components in the other approaches would not be a fair comparison.

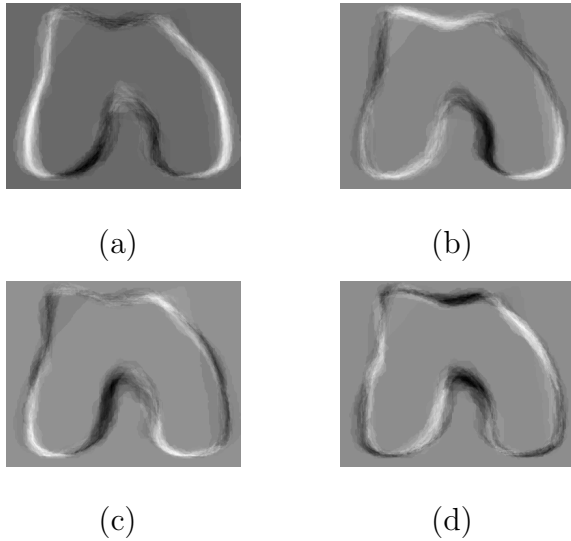


Figure 3: Loadings in the first PC (a), the second PC (b), the third PC (c) and the fourth PC (d), for the set approach.

However, the error rates obtained before (15 and 12 for one and two components, respectively) are too optimistic, as we are using all the data for obtaining the PCs. As explained in Ripley (1996, Chapter 2) or Hastie et al. (2009, Chapter 7), a double or nested cross-validation should be done. The double cross-validated error rate estimation that we propose makes use of the cross validation methodology in two stages in order to estimate the overall error rate of the whole procedure, also taking into account the feature-selection method, which must be implemented in the training phase (see Ambroise and McLachlan (2002) for a detailed discussion of this point). First, each observation (bone) is deleted in turn (external cross-validation). For the remaining samples, we carry out the PCA and select those components for which the difference is significant. As mentioned previously, we restrict ourselves to classifying with only two components, therefore we selected the pair from the selected components that gives the smallest error rate by leave-one-out cross-validation (internal cross-validation) with linear discrimination for the remaining samples. Using the scores of the two selected components, we calculate the linear discriminant classifier with the internal samples. The scores of the initially deleted observation for these two chosen components can be easily obtained as we have their loadings; it is a simple inner product.

We use the linear classifier previously built to predict the class label for the initially deleted observation. This prediction is preserved to produce the (external) leave-one-out estimate of the prediction error, because this process is repeated in turn for each of the observations. Of course, for each observation (external iteration), different subsets of PC can be selected. As PCA is computed with different data, PCs from different external iterations are not comparable, especially those with low variance. For example, component 20 in one iteration could be quite different from component 20 obtained in another iteration.

By the double cross-validation strategy, a total of 15 errors are obtained (3 false positive and 12 false negative).

### 2.3. Function description

With the standardized images (position and size filtered out) as explained in Section 2.2, we consider the contour (outline) of the shapes. The contour is a closed planar curve that consists of the elements of the figure boundary. Although other contour functions can be used (see Kindratenko (2003) for a systematic review of various contour functions), we consider the contour parameterization by its arc length, which can be applied to any contour (note that other contour functions have limitations). The tracing begins counter-clockwise at the easternmost outline point in the same row as the centroid, using *bwtraceboundary* from the image toolbox of MatLab. We normalize these functions in such a way that the perimeter length is eliminated and the functions are defined on  $[0,1]$ . Although they are recorded discretely, a continuous curve or function lies behind these data. In order to convert the discrete curve observations into a true functional form, we approximate (smooth) each curve by a weighted sum (a linear combination) of fifty-one Fourier bases (note that this basis system is periodic with period 1), and determine the coefficients of the expansion by fitting data by least squares, as explained in Ramsay and Silverman (2005, Chapter 4). Each curve is, therefore, completely determined by the coefficients in this basis, and each function is computable for any desired argument value  $t \in [0, 1]$ . All this work has been done by means of *fda* library (Ramsay and Silverman, 2005). The free library *fda* for MatLab and R, available at <http://www.functionaldata.org>, is especially designed to work with functional data (Ramsay et al. (2009) is a book about this library). Finally, in order to have the same number of points for all functions, we evaluate the functions in 100 equidistant points from 0

to 1. We therefore have two pairs of functions (representing coordinates)  $\{X(t), Y(t)\}$  for each bone, with  $t \in [0, 1]$ .

Let us see how to apply PCA in this infinite dimensional domain. A short answer would be that summations change into integrations, but details are given in the following section.

### 2.3.1. PCA for functional data

In order to see how PCA works in the functional context, let us recall PCA for Multivariate Data analysis (MDA). In MDA, principal components are obtained by solving the eigenequation

$$\mathbf{V}\xi = \rho\xi, \quad (1)$$

where  $\mathbf{V}$  is the sample variance-covariance matrix,  $\mathbf{V} = (N-1)^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{X}$ , where in turn  $\mathbf{X}$  is the centered data matrix,  $N$  is the number of individuals observed, and  $\mathbf{X}'$  indicates the transpose of  $\mathbf{X}$ . Furthermore,  $\xi$  is an eigenvector of  $\mathbf{V}$  and  $\rho$  is an eigenvalue of  $\mathbf{V}$ .

In the functional version of PCA, vectors are not considered any more, but PCs are replaced by functions or curves. Let  $\{x_1(t), \dots, x_N(t)\}$  be the set of observed functions. The mean function can be defined as the average of the functions point-wise across replications ( $\bar{x}(t) = N^{-1}\sum_{i=1}^N x_i(t)$ ). Let us assume that we work with centered data (the mean function has been subtracted), and define the covariance function  $v(s, t)$  analogously by  $v(s, t) = (N-1)^{-1}\sum_{i=1}^N x_i(s)x_i(t)$ . As explained in Ramsay and Silverman (2005, Chapter 8), the functional counterpart of equation 1 is the following functional eigenequation

$$\int v(s, t)\xi(t)dt = \rho\xi(s), \quad (2)$$

where  $\rho$  is still an eigenvalue, but where  $\xi(s)$  is an eigenfunction of the variance-covariance function, rather than an eigenvector. Now, the principal component score corresponding to  $\xi(s)$  is computed by using the inner product for functions

$$s_i = \int x_i(s)\xi(s)ds. \quad (3)$$

Note that for multivariate data, the index  $s$  is not continuous, but a discrete index  $j$  replaces it:  $s_i = \sum_j x_{ij}\xi_j$ .

There are several strategies for solving the eigenanalysis problem in equation 2. In order to retain the continuity of the original functional data and

to reduce the amount of information, we have used the approach proposed in Ramsay and Silverman (2005). Instead of using a lot of variables obtained by discretizing the original functions, this type of analysis works with the coefficients of the functions expressed as a linear combination of known basis functions (Fourier in our case, although other bases could be used, such as B-splines). Functional PCA can be carried out easily by using the library *fda*. For a complete review of computational methods for functional PCA, see Ramsay and Silverman (2005).

Regarding the problem of how many PCs can be computed, let us note that in the functional context, “variables” now correspond to values of  $t$ , and there is no limit to these. Therefore, a maximum of  $N - 1$  components can be computed. However, if the number of basis functions  $K$  defining the curves is less than  $N$ ,  $K$  would be the maximum.

### 2.3.2. Functional PCA with multiple functions

Our data consist of two functional data per bone. Functional PCA can deal with two (or more) functional observations per individual, two curves  $x(t)$  and  $y(t)$ . Let  $\{(x_1(t), y_1(t)), \dots, (x_N(t), y_N(t))\}$  be the set of pairs of observed functions. Two mean functions ( $\bar{x}(t), \bar{y}(t)$ ) and two covariance functions ( $v_{XX}(s, t), v_{YY}(s, t)$ ) can be computed for each kind of function, respectively. Furthermore, we can calculate the cross-covariance function of the centered data by:

$$v_{XY}(s, t) = (N - 1)^{-1} \sum_{i=1}^N x_i(s)y_i(t). \quad (4)$$

A typical PC is defined by a two-vector  $\xi = (\xi_X, \xi_Y)$  of weight functions (two curves). They are solutions of the eigenequation system  $V\xi = \rho\xi$ , which in this case can be written as

$$\begin{aligned} \int v_{XX}(s, t)\xi_X(t)dt + \int v_{XY}(s, t)\xi_Y(t)dt &= \rho\xi_X(s) \\ \text{and} & \\ \int v_{XY}(s, t)\xi_X(t)dt + \int v_{YY}(s, t)\xi_Y(t)dt &= \rho\xi_Y(s). \end{aligned} \quad (5)$$

Now, the PC score for the  $i$ -th bivariate function  $(x_i(t), y_i(t))$  is computed by  $s_i = \int x_i\xi_X + \int y_i\xi_Y$ , because the inner product between bivariate functions is defined by the addition of the inner products of the two components. This amounts to stringing two functions together to form a composite function.

To solve the eigenequation system, each function  $x_i(t)$  and  $y_i(t)$  is replaced by a vector of values or basis coefficients, and a single synthetic function is

built by joining them together. When PCs have been computed, we separate the parts belonging to each coordinate. Again, this procedure is implemented on the *fda* library and is explained fully in Ramsay and Silverman (2005).

The proportion of variance explained by each eigenfunction is computed as in the multivariate case, by each eigenvalue  $\rho$  divided by the sum of all eigenvalues. Moreover, for each PC, the variation accounted for each original curve  $x(t)$  and  $y(t)$  is given by  $\int \xi_X(s)\xi_X(s)ds$  and  $\int \xi_Y(s)\xi_Y(s)ds$  respectively, because their sum is one by definition.

The first four principal components for the bones explain 80.52% of the whole variance, made up of 55.00%, 10.59%, 9.02% and 5.91% respectively. 90.21% of the variability is explained by the first seven components.

In order to display the effect of each PC, the mean function is displayed together with the functions obtained by adding (plotted with +) and subtracting (plotted with -) a suitable multiple of the principal component function in question, in our case two standard deviations of each component. In this way, the effects of each PC are usually clarified (see Ramsay and Silverman (2005, Chapter 8)). They are shown in Fig. 4. The first component correspond to the length of the left condyle, but also to the shape of the intercondylar notch. 63.33% of the variation in this component is due to the  $y$ -coordinates (function). The second component is associated with a broader intercondylar notch (for negative scores) and the shape of the top of the image. In this component, 95.13% of variability comes from the  $x$ -coordinates. Component 3 is associated with the left condyle and the top right hand part of the image. The proportion of the variability in this component is 74.59% for the  $x$ -coordinates. Finally, component 4 is concentrated almost entirely on the internal part of the right condyle. 58.12% of the variation in this component is due to the  $y$ -coordinates.

For the discriminant analysis, we follow the same strategies as in the set approach. First, PCA with all data is calculated, but only those components for which the difference is significant are considered. Now, three components are significant: 1, 6 and 10. If we compute the misclassification rate by leave-one-out as before, the best classification with one component is obtained by the sixth component (16 errors, 3 false positive and 13 false negative) and the tenth component (16 errors, 0 false positive and 16 false negative). If two components are used, the best classification is achieved by components 1 and 6, giving 11 errors (2 false positive and 9 false negative). However, these estimations are optimistic, and we have carried out the double cross validation strategy explained in Section 2.2, whose estimation has returned

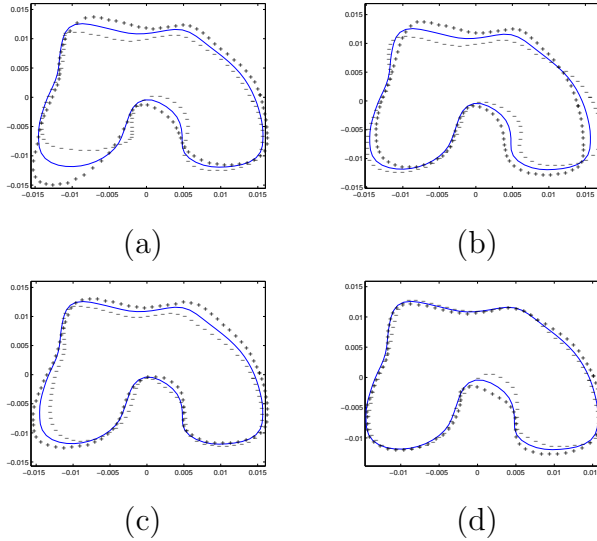


Figure 4: The effects of the first PC (a), the second PC (b), the third PC (c) and the fourth PC (d), for the functional approach.

13 errors (2 false positive and 11 false negative).

In other papers, where functional principal component analysis is included as part of the discrimination analysis, such as Hall et al. (2001) or Ramsay and Silverman (2002, Chapter 8), they do not select the components, but they consider the first  $J$  components, where  $J$  is chosen by cross-validation. Although there is no guarantee that the first components will be the most discriminant, we have also considered this strategy to show the comparison with our selecting strategy.

We have used double-cross validation. First, each observation (bone) is deleted in turn (external cross-validation). For the remaining samples, we carry out the PCA and select the first  $J$  components that give the smallest error rate by leave-one-out cross-validation (internal cross-validation) with linear discrimination for the remaining samples. Using the scores of the first  $J$  components, we calculate the linear discriminant classifier with the internal samples. The scores of the initially deleted observation for the first  $J$  components can be easily obtained as we have their loadings; it is a simple inner product. We use the previously built linear classifier to predict the class label for the initially deleted observation. This prediction is preserved to produce the (external) leave-one-out estimate of the prediction error, because this



process is repeated in turn for each of the observations. Of course, for each observation (external iteration),  $J$  can vary. By the double cross-validation strategy with the first  $J$  components, a total of 13 errors are obtained (3 false positive and 10 false negative). This is the same number of errors as we have obtained with our selecting strategy, with only two components. However, a look at the chosen  $J$ s reveals that  $J$  very often corresponds to 15 and 16, a very high number taking into account that the eburnated group is constituted by 16 eburnated femora. Therefore, overlearning should not be discarded when the first  $J$  components are considered in this case.

#### *2.4. Comparison of the three approaches*

Firstly, note the different distribution of the variability for the three approaches. With the first four PCs with landmarks, 92.76% of the variability is considered. However, 84.62% of the variance is concentrated on only one component, whereas the second component only accounts for 3.26% of the variability; therefore, it is not very representative. Predictably, the landmark approach cannot collect fine details in variation since we only work with 12 points. On the contrary, with the set approach the variability is extremely partitioned: 44 components are needed in order to capture 90.39% of the variability. Interpreting 44 components is not an easy issue. On the other hand, in an intermediate position between the other two approaches, we find the functional PCA, which gives a variability decomposition which is not so extreme: we can obtain more details on variability decomposition than with landmarks, without being so extremely decomposed as in the set approach.

As regards the discriminant problem, obviously (as less information is considered), the classification results for landmarks are the worst. Similar results are obtained for the set and functional approach (15 versus 13 errors, respectively). However, there are other procedures for carrying out functional data classification that will improve the results with respect to the set approach results.

### **3. ICA in functional data classification**

#### *3.1. Curve discrimination*

Different alternatives have been proposed for the curve discrimination problem, although mainly for univariate functions. Two of the first methods were a regularized version of LDA called penalized discriminant analysis

(PDA) proposed by Hastie et al. (1995), and a generalized linear regression approach proposed by Marx and Eilers (1999). More recently, some non-parametric alternatives have been proposed, such as the kernel one by Ferraty and Vieu (2003), the  $k$ -NN one by Burba et al. (2009) or the local linear one by Barrientos-Marin et al. (2010). Biau et al. (2005) also studied  $k$ -nearest neighbor classifiers for functional data. Other recent advances in functional data classification appear in the following papers, and all involve some type of preprocessing (sometimes implicit) of the functional data. Rossi and Conan-Guez (2005) suggested the use of neural networks for nonlinear regression and classification of functional data; the use of neural networks was also considered by Ferré and Villa (2006), who studied a preprocessing approach in which functional data are described via a projection on an optimal basis (in the sense of the inverse regression approach), and subsequently submitted to a neural network for further processing; James and Silverman (2005) studied a non linear regression model for functional descriptors; Rossi and Villa (2006) and Li and Yu (2008) used Support Vector Machines (SVM) for functional data classification. Finally, Epifanio (2008) proposed the use of several shape descriptors. One of those descriptors were coefficients of independent component analysis (ICA) components. In Epifanio (2008), those descriptors were compared with classical and the most recent advances in univariate functional data classification in three different problems (an artificial problem, a speech recognition problem and a biomechanical application). The first two problems were considered in Ferraty and Vieu (2003), where they also performed a wide-ranging comparative study. In Epifanio (2008), the proposed descriptors were compared with the methodology proposed in Hastie et al. (1995), in Ferraty and Vieu (2003) including the MPLSR method in its semi-metric and PCA, in Rossi and Conan-Guez (2005), in Ferré and Villa (2006), in Rossi and Villa (2006). As Li and Yu (2008) use the same example (a subproblem of the speech recognition problem) as Rossi and Villa (2006), we can also compare the results in Epifanio (2008) with those of Li and Yu (2008). The descriptors proposed in Epifanio (2008) gave results better than or similar to those obtained using the previous techniques (see Epifanio (2008) for details).

### *3.2. Coefficients of Independent Component Analysis Components*

Coefficients of independent component analysis (ICA) components can be computed easily, and provide better than or similar results to those from existing techniques (Epifanio, 2008). Furthermore, they can be extended

easily to the multivariate functional case, as we will explain in this section. Although Epifanio (2008) can be seen for details, a brief summary is given here.

Assume that we observe  $n$  linear mixtures  $x_1(t), \dots, x_n(t)$  of  $n$  independent components  $s_j(t)$ ,

$$x_i(t) = \sum_{j=1}^n a_{ij}s_j(t), \text{ for all } i. \quad (6)$$

In practice, we have discretized curves ( $\mathbf{x}_i = \{x_i(t_k); k = 1, \dots, m\}$ ), therefore we can consider the  $m \times n$  data matrix  $\mathbf{X} = \{x_i(t_k)\}$  to be a linear combination of independent components, i.e.  $\mathbf{X} = \mathbf{S}\mathbf{A}$ , where columns of  $\mathbf{S}$  contain the independent components and  $\mathbf{A}$  is a linear mixing matrix. ICA attempts to “un-mix” the data by estimating an un-mixing matrix  $\mathbf{W}$  where  $\mathbf{X}\mathbf{W} = \mathbf{S}$ . Under this generative model, the measured “signals” in  $\mathbf{X}$  will tend to be “more Gaussian” than the source components (in  $\mathbf{S}$ ) due to the Central Limit Theorem. Thus, in order to extract the independent components or sources, we search for an un-mixing matrix  $\mathbf{W}$  that maximizes the nongaussianity of the sources.

We compute ICA for functions in the training set. The coefficients in this base ( $\mathbf{S}$ ) can be easily obtained by least squares fitting (Ramsay and Silverman, 2005). If  $\mathbf{y} = \{y(t_k)\}_{k=1}^m$  is a discretized function, its coefficients are:  $(\mathbf{S}'\mathbf{S})^{-1}\mathbf{S}'\mathbf{y}$ . These coefficients constitute the feature vector used for the classification step. We assume that all functions are observed at the same points, otherwise we can always fit a basis and estimate the functions at the required points.

Before the application of the ICA algorithm, it is useful to reduce the dimension of the data previously by principal component analysis (PCA) (for details, see Hyvärinen et al. (2000, Section 5)), thus reducing noise and preventing overlearning (Hyvärinen et al., 2001, Section 13.2). Therefore we compute the PCA first, retaining a certain number of components, and then estimate the same number of independent components as the PCA reduced dimension. The FastICA algorithm (which includes the PCA computation in the software available for MatLab and R: <http://www.cis.hut.fi/projects/ica/fastica/>), with the default parameters, is used for obtaining ICA (Hyvärinen, 1999).

When having multivariate functional data, we can concatenate observations of the functions into a single long vector, as done for computing bivariate functional PCA (Ramsay and Silverman, 2002). Then, the coefficients in

ICA base can be used in a classical linear discriminant analysis.

In Epifanio (2008) and Epifanio and Ventura (2008), the components were not selected, but the first  $J$  components were considered, where  $J$  was chosen by cross-validation, such as in Hall et al. (2001) and Ramsay and Silverman (2002) with functional PCA. Here, besides extending the methodology proposed in Epifanio (2008) to the multivariate functional case, we also propose to select the components in a similar way to that in Section 2 with PCA. Furthermore, we propose to compute a linear discriminant function  $\alpha(t)$  based on ICA as done in Ramsay and Silverman (2002, Chapter 8) with PCA. This function  $\alpha(t)$  would be the functional counterpart of the linear discriminant or canonical variate (Ripley, 1996, Chapter 3), therefore,  $\int_0^1 \alpha(t)x_i(t)dt$  would return the score or discriminant value of  $x_i(t)$  on the discriminant variable.

If we select two ICA functions  $(I, K)$  from the ICA base, and apply classical linear discriminant analysis to the ICA coefficients for these two functions, the two coefficients  $(c_1, c_2)$  of the linear discriminant are obtained. From them, we can build  $\mathbf{a}$ , a vector of the same length as the number of the ICA basis functions considered, constituted by zeros except for positions  $(I, K)$ , with values  $c_1$  and  $c_2$ , respectively.

The linear discriminant values can be expressed in terms of the ICA coefficients and coefficients of linear discriminants  $\mathbf{l}$ :  $\mathbf{l}(\mathbf{S}'\mathbf{S})^{-1}\mathbf{S}'\mathbf{X}$ . For a specific individual  $i$ :  $\mathbf{l}(\mathbf{S}'\mathbf{S})^{-1}\mathbf{S}'\mathbf{x}_i$ . At the same time, we can approximate  $\int \alpha(t)x_i(t)dt$  by  $\sum_{k=1}^m \alpha(t_k)x_i(t_k)$  if we consider the separation between points as one. Therefore, we estimate  $\alpha(t)$  at points  $t_k$  as  $\mathbf{l}(\mathbf{S}'\mathbf{S})^{-1}\mathbf{S}'$ .

### *3.3. Bone classification by multivariate functional data discrimination using ICA*

We apply the previous methodology to the bones, following the same strategies as for functional PCA in Section 2.3.2. Firstly, we compute ICA with all data. As aforementioned, PCA is calculated before ICA, and only 18 components remain since components associated with eigenvalues of less than  $1e-7$  are not considered, to avoid singularity of the covariance matrix (as implemented in the FastICA algorithm). For these 18 independent components, the coefficients of 8 components present significant differences between the two groups: 1, 2, 7, 10, 12, 14, 16 and 18. We compute the misclassification rate by leave-one-out, and the best classification with one component is obtained by the first (12 errors, 4 false positive and 8 false negative), while for two components by the first and seventh components (8 errors, 2 false positive and 6 false negative). In Fig. 5, the functional linear discriminant

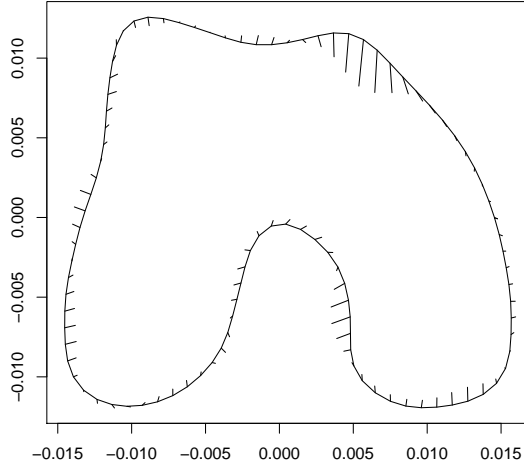


Figure 5: Mean shape of bones, and  $\alpha(t)$  based on ICA.

$\alpha(t)$  computed for components 1 and 7, together with the mean shape (in a solid line) are shown (the segments show how the points on the mean shape are perturbed in the direction defined by the discriminant function). The length of the segments shows the zones in which the discriminant score increases most rapidly. In Ramsay and Silverman (2002, Chapter 8), the mode of variability corresponding to a functional linear discriminant  $\alpha(t)$  based on the first six principal components of the notch (not the complete bone shape) is displayed. This result is very similar to the one obtained here, if we look at the intercondylar notch.

However, those previous estimations are optimistic, and we have carried out the double cross validation strategy explained in Section 2.2, whose estimation has returned 11 errors (3 false positive and 8 false negative). As with PCA, we also consider the double cross-validation strategy with the first  $J$  components, which gives 12 errors (4 false positive and 8 false negative). This is bigger than the number of errors that we have obtained with our selecting strategy, with only two components. Furthermore, a look at the chosen  $J$ 's reveals that  $J$  very often corresponds to 16, a very high number taking into account that the eburnated group is constituted by 16 eburnated femora.

It is also very interesting and important to plot the scores of each indi-

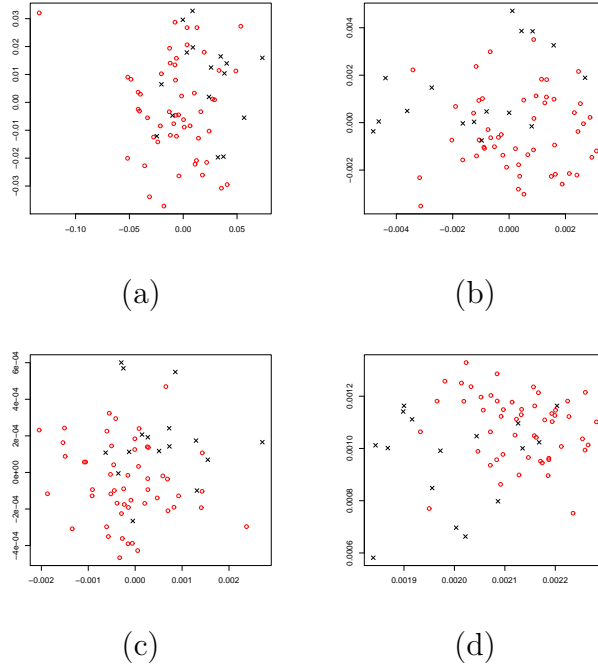


Figure 6: Scores for PCA components 3 and 7 of landmark approach (a), 2 and 3 of set approach (b), 1 and 6 of functional PCA (c) and 1 and 7 of ICA (d).

vidual on each component because these scatter plots can reveal interesting features, such as clusters of individuals having similar behavior on the component in question. For all the approaches, the scores for the two components for which the best result was obtained in each approach is displayed in Fig. 6. The eburnated femora are represented by a cross, while the non-eburnated are represented by a circle. The separation between the two groups is clearer using the ICA approach, where eburnated femora appear mainly in the lower triangular part of the figure.

We now consider the classification obtained by a regularized version of LDA called penalized discriminant analysis (Hastie et al., 1995), using the classical ridge penalty (PDA/ Ridge). In the comparative among different methods for curve discrimination (Epifanio, 2008), this method provided an excellent performance. For this method, the shrinkage penalty coefficient ( $\lambda$ ) needs to be established. We have considered a double-cross-validation for the estimation of the error rate. Several values for  $\lambda$  (1e-04, 5e-05, 1e-05, 5e-06, 1e-06 and 5e-07) have been proposed and used in the *fda* function of

the  $R$  library *mda* (Hastie and Tibshirani, 2006). These proposed values for  $\lambda$  have been selected by computing the performance by leave-one-out for a bigger set of values of  $\lambda$ , where the best result was obtained for  $\lambda = 1e-5$  (the proposed values for  $\lambda$  are around this value): 10 errors (3 false positive and 7 false negative). However, as before, this is an optimistic estimation since  $\lambda$  is selected with the training data. For the double-cross-validation strategy, each observation is removed in turn. For each proposed  $\lambda$ , we perform a penalized discriminant analysis leaving-one-out of the remaining samples, and establishing which  $\lambda$  gives the best performance. For this  $\lambda$ , we predict the class of the observation initially removed, using the remaining samples. This prediction is preserved to produce the (external) leave-one-out estimate of the prediction error, because this process is repeated in turn for each of the observations. Of course, for each observation (external iteration), different  $\lambda$ s can be selected. By the double cross-validation strategy, the number of errors is 15 (7 false positive and 8 false negative).

Analogously, we have used the nonparametric curve discrimination method (NPCD) with the semi-metric based on functional principal component analysis (FPCA) and multivariate partial least-squares regression (MPLSR) introduced by Ferraty and Vieu (2003) (instead of  $\lambda$ , the tuning parameter is now the number of components used in the semi-metric, from 1 to 7). The best results using leave-one-out were obtained for 1 component for the first semi-metric (16 errors, 0 false positive and 16 false negative), and 4 factors for the second semi-metric (11 errors, 6 false positive and 5 false negative). Using the double-cross-validation strategy, the number of errors is 18 (2 false positive and 16 false negative) for the FPCA semi-metric and 14 (6 false positive and 8 false negative) for the MPLSR semi-metric.

In short, in the functional approach, the best discriminant result is obtained by our methodology, with two ICA components (11 errors), which is better than functional PCA (13 errors) and PDA/Ridge (15 errors) or NPCD/FPCA (18 errors) and NPCD/MPLSR (14 errors). The result with ICA is better than that of the set approach (15 errors) or the landmark approach (16 errors in the optimistic estimate).

#### 4. Hippocampus study in Alzheimer’s disease

The early diagnosis of Alzheimer’s disease (AD) is a very important issue in our society, since the administration of medicines to subjects who are subtly impaired may render the treatments more effective. Mild cognitive

impairment (MCI) is considered as a diagnostic entity within the continuum of cognitive decline towards AD in old age (Grundman et al., 2004; Petersen, 2004). Longitudinal studies indicate a direct relation between the hippocampal volume decrease in and cognitive decline (Jack et al., 1999; Mungas et al., 2001). However, volumetric measurements are simplistic characteristics and structural changes at specific locations cannot be reflected in them. If morphological changes could be established, then this should enable researchers to gain an increased understanding of the condition. This is the reason why nowadays shape analysis is of an enormous importance in neuroimaging circles (Styner et al., 2004).

In order to understand the way in which hippocampi differ among three different groups (controls, patients with MCI, and patients with early AD), we have their magnetic resonance (MR) scans, which will be transformed into multivariate functional data, as explained in following section. These multivariate functional data will be used in a functional discriminant analysis. We will apply the methodology presented in the previous section, with some small modifications.

#### *4.1. Brain MR scans processing*

28 individuals were analyzed in this study: 12 controls (5 males and 7 females, with mean age 70.17 and standard deviation 3.43), 6 patients with MCI (2 males and 4 females, with mean age 75.50 and standard deviation 3.33), and 10 patients with early AD (1 male and 9 females, with mean age 71.50 and standard deviation 4.35). All the subjects were recruited from the Neurology Service at La Magdalena Hospital (Castelló, Spain) and the Neuropsychology Service at the Universitat Jaume I. All experimental procedures complied with the guidelines of the ethical research committee at the Universitat Jaume I. Written informed consent was obtained from every individual or their appropriate proxy prior to participation. Selection for the participant group was made after careful neurological and neuropsychological assessment. The neuropsychological test battery involved Digit Span, Similarities, Vocabulary, and Block Design of the WAIS-III; Luria's Watches test, and Poppelreuter's Overlapping Figure test. MR scans were carried out with a 1.5T General Electric system. A whole brain high resolution 3D-Gradient Echo (FSPGR) T1-weighted anatomical reference scan was acquired (TE 4.2 ms, TR 11.3 ms, FOV 24 cm; matrix =  $256 \times 256 \times 124$ , 1.4 mm-thick coronal images).



Hippocampi were traced manually on contiguous coronal slices (or sections) following the guidelines of Watson et al. (1992), and Hasboun et al. (1996). The hippocampus segmentation was done by an expert tracer with MRIcro software, blinded to the clinical data of the study subjects. The segmentation of each hippocampus lasted approximately 40 minutes. An example of the left and right hippocampal contour (drawn in white) in a coronal view can be seen in Fig. 7 (a), while a sagittal view of one of the hippocampus can be seen in Fig. 7 (b). Each hippocampus is described by around 30 coronal slices.

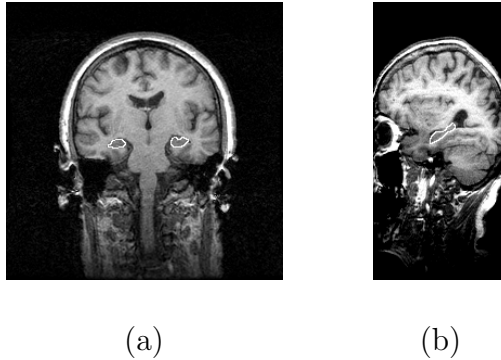


Figure 7: Hippocampal outlines in a coronal (a) and sagittal (b) slice.

As hippocampal volume is related to the patient’s condition, we describe each slice by its area (note that if these areas are added up, we obtain an amount proportional to the volume). The area for each slice can be estimated as the number of pixels belonging to each segmented hippocampal slice. The area of the left and right hippocampus in each slice is computed. Therefore, for each subject we have two functional data. However, the argument is not time, as is usual, but space: the coronal axis, the slices. Only the left and right hippocampal area in each coronal slice (with 1.4mm of separation between them) are available. These functions are measured discretely, but in principle they really represent continuous functions, since (obviously) the hippocampus is a continuous structure in the space. Therefore, they are functional data. In Fig. 8, we can see the two functional data for the 28 individuals. As the coronal length of each hippocampus is variable, in order to have a common axis (33 slices), we complete the raw data by adding zeros when the hippocampal surface is finished. Moreover, for all subjects, the first and last slice area are zero.

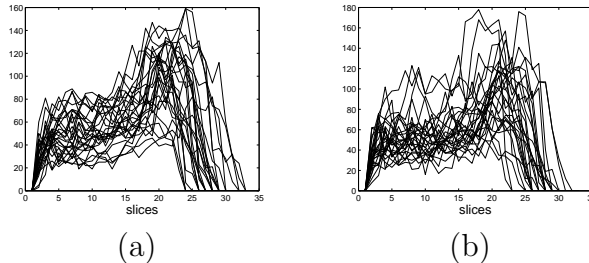


Figure 8: Right (a) and left (b) hippocampal areas for each slice.

#### 4.2. Results of the hippocampus study

Firstly, we consider the right and left hippocampal volumes, which are classical variables in the literature. Volumes are estimated as the sum of the slice areas. When volumes of right and left hippocampi are considered, the number of errors are 5, using linear discriminant analysis and leave-one-out cross-validation. However, if hippocampi are considered separately, 6 and 7 errors are obtained for the left and right hippocampi, respectively.

Secondly, bivariate functional data compiling slice areas for the left and right hippocampi are considered. Data are smoothed by 31 (nearly the same number of slices due to the low sampling rate) Fourier basis functions. The next step is to perform a registration process in order to take into account the phase variation (some hippocampi only appear in 24 slices). One registration for the left and another one for the right hippocampus function are carried out, applying the function *registerfd* of the package *fda* (Ramsay et al., 2009), using the minimum eigenvalue of a cross-product matrix as the continuous registration criterion and the mean function as the target function (Ramsay and Silverman, 2005). Default parameters are used for this function, except for the number of iterations, which is increased in order to satisfy the criterion for convergence.

We now use the methodology presented in Section 3.2 with some small changes due to the nature of the problem. In this problem the number of samples (slices) practically equals the dimension of the data (28). Although we could compute as many independent components as signals, this results in overlearned components having single spikes (Särelä and Vigário, 2003), and these components are not interpretable. As explained in Särelä and Vigário (2003), one solution for circumventing overlearning could be to acquire more samples, but in this case it is not possible to obtain more slices (this would

increase the already long acquisition time of MR brain scans). Another solution is reducing dimension: the number of free parameters is  $n^2/2$ , so in this problem we compute a maximum of 7 components ( $n < \sqrt{2 \cdot 30}$ ), taking into account that each hippocampus is described by around 30 slices (samples). So, the first modification is that we compute the independent components varying their number from 1 to 7. For each case, we consider the components for which the difference among the 3 groups is significant. However, in this problem the t-test cannot be used as before because we have 3 groups, not 2, so we use the Kruskal-Wallis test.

As our objective is the way in which the hippocampi differ among the three groups, we show the combination for which the best discriminant results are obtained, by leave-one-out. The error estimate obtained in this way will be optimistic, but we want to investigate the shape variation among the groups, obtaining the linear discriminant functions.

The number of misclassifications for the left hippocampi is 2, with 3 significant components (1, 2 and 5) from the 5 computed, whereas it is 7 for the right hippocampi, with 2 components, from the 2 components computed, which are significant. Note that in Epifanio and Ventura (2008), when we used all the components without selection, the best result was 3 errors, obtained with 5 components for the left hippocampi. Figs. 9 (a) and (b) display the mode of variability corresponding to the resulting  $\alpha(t)$ s, for the left and right hippocampi, respectively, with the vertical lines. The solid curve is the mean. The dashed, dash-dotted and dotted curves represent the mean of the controls, patients with MCI, and patients with early AD, respectively. The first linear discriminant explains 96.82 % and 91.86% of the variance between groups, for the left and right hippocampi, respectively.

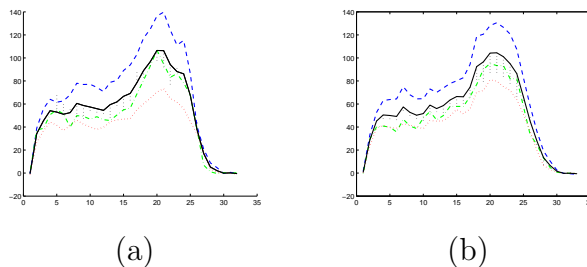


Figure 9: The mode of variability corresponding to  $\alpha(t)$ s, for the left (a) and right (b) hippocampi. See the text for details.

Head, body and tail are the three parts that make up a hippocampus

(Hasboun et al., 1996). Both for the right and left hippocampus, the zone where the linear discriminant functions are bigger in absolute value corresponds to the head of the hippocampi. In other studies, with other methodologies, the same conclusion was reached (Wang et al., 2003). In particular, the point where  $\alpha(t)$ s takes its maximum absolute value for the left hippocampus is 22, while it is 24 for the right hippocampus. We can find the left and right slices of each subject corresponding to those maximum values, inverting the corresponding warping function of the registration process and rounding to the nearest integer. Besides the (left and right) slice obtained for each individual with this process, we also consider the previous and subsequent slice to the determined slice, so as not to base the following analysis only on one single slice. In short, three slices for the right and three slices for the left hippocampi are considered for each subject. The averages of the areas of these three slices are shown in Fig. 10 (b), together with the volumes for the right and left hippocampi (Fig. 10 (a)). In Fig. 10 (b) is easier to discriminate between groups. The number of misclassifications with the mean hippocampal head areas is 3 by leave-one-out.

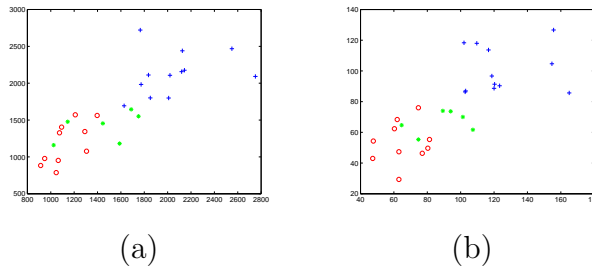


Figure 10: Left vs. right hippocampal volumes (a), and mean of the areas of the determined hippocampal head slices (b). Crosses, stars and circles indicate the controls, patients with MCI, and patients with early AD, respectively.

Instead of considering simply the area of the three slices determined, we can consider their outlines. We parameterize the outlines of each of the three determined slices by arc length with 45 points. The different slices are translated to the origin in such a way that their centroids coincide with the origin. The tracing begins counterclockwise in the easternmost outline point in the same row as the centroid, using the function *bwtraceboundary* of the image toolbox of MatLab, as was done before with the bones. A polygonal basis (Ramsay et al., 2009) with fifteen functions is used to represent these outlines. The averages of the three slices considered per individual are cal-

culated for the left and right hippocampi. Therefore, we have two pairs of functions  $\{X(t), Y(t)\}$  (which represent the mean outlines of the three determined slices,  $X(t)$  gives the  $X$  coordinates, while  $Y(t)$  the coordinates in the  $Y$  axis) for each individual, one pair for the right and another pair for the left hippocampus, i.e. a total of four functional data per individual. In Fig. 11 the averages of these functions are shown. The dashed, dash-dotted and dotted curves represent the mean of the controls, patients with MCI, and patients with early AD, respectively.

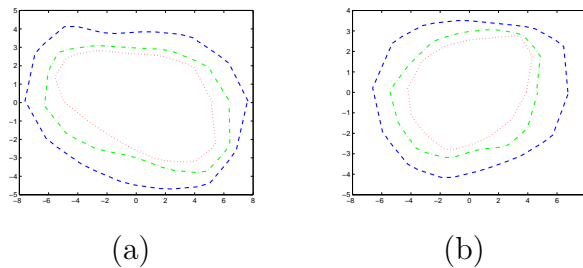


Figure 11: Averages for the left (a) and right (b) slices of the determined hippocampal head slices.

Using these four functions jointly, we have deleted one individual each time and computed ICA without that observation. The linear discriminant scores obtained with the 27 individuals are used to predict the class of the observation deleted. With this leave-one-out strategy and one independent component, only 2 misclassifications are achieved, which are very promising results. Remember that we selected the slices of the hippocampal head with the 28 individuals, and therefore the estimated error will be optimistic, but this application is simply an illustration of the methodology. Note that in Epifanio and Ventura (2008), without selecting the components, we also obtained 2 errors but using three components instead of one. With the set approach (concatenating the images for the right and left hippocampi obtained with the mean outlines), 4 errors are obtained with two components, the most discriminant ones as explained in Section 2.2 (with only one component, 4 errors are also obtained). With functional PCA and two components (the most discriminant ones in each step of the double cross-validation, as explained in Section 2.3.2) 8 errors are obtained (10 errors with one component). Therefore, the advantage of using ICA is clear.

## 5. Conclusions and Discussion

In this study we have revealed the role that FDA can play in image analysis, where despite many descriptors being functions, FDA has hardly been applied. In particular, we have focused our attention on shape analysis, where the use of FDA in the functional approach has shown its superiority over other approaches, such as the landmarks or the set theory approach, in two different problems (PCA and discriminant analysis) in a well-known database of bone outlines (see Section 2.4).

Furthermore, we have dealt with a problem that has hardly ever been considered in the literature: the multivariate functional discrimination (most of the existing literature on functional classification considers univariate curves datasets). We have also proposed a discriminant function based on ICA, and the classification results obtained with this methodology are very promising.

Unlike other papers in the literature where functional PCA is included as part of the discrimination analysis, we have proposed selecting the components. This has also been proposed with ICA. Our option has been to consider all the components and select the significant ones. However, in the hippocampus study, the number of samples practically equals the dimension of the data, and we had to make a small modification in order to avoid overlearned components. The problem of how many components should be estimated is an open question in ICA (Hyvärinen et al., 2001). This a point for future study, and maybe an order could be established such as in Cheung and Xu (1999). Another point to study is improving the smoothness of the functions by using a roughness penalty.

We have also applied FDA in the analysis of MR scans in order to study the hippocampal differences among the subjects in three groups: controls, MCI, and patients with early Alzheimer’s disease. The database is quite small for obtaining valid medical conclusions, although the methodology could be used without modification with a larger database. This is a novel application of FDA in image analysis, where we use a spatial argument for the functional data instead of the temporal argument commonly used in FDA.

In the application, we have seen that the head was the most discriminative part. This point is very interesting, since if segmentation was reduced only to the hippocampal head, the segmentation time would be shorter. Furthermore, it is easier to implement an automatic segmentation for the hippocampal head only, which will decrease that time even more, and will eliminate variability due to the subjectivity of the manual tracer. (Remem-

ber that the total time for the manual segmentation of one hippocampus was approximately 40 minutes).

Some additional points to study are as follows: Firstly, from the statistical point of view, the use of ICA in other statistical problems such as functional logistic regression or visualization (Hyndman and Shang, 2010), or the use of ICA in the construction of a semi-metric for use with non-parametric techniques (Ferraty and Vieu, 2006) (PCA-type semi-metrics could be replaced by ICA-type semi-metrics by just considering the ICA expansion instead of the PCA-based expansion. This is a very interesting field of study, since compared with PCA, ICA allows better observation of the underlying structure of the data. PCA is a purely second-order statistical method, whereas ICA requires the use of higher-order statistics; therefore, ICA can be seen as an extension to PCA.). Secondly, from the image analysis point of view, is the application of FDA in other problems of shape analysis such as the definition of confidence and quantile sets (Simó et al., 2004), or its use when the closed contour of a figure is not always available, such as in Domingo et al. (2005), maybe using a discontinuous function. Thirdly, FDA can be exploited in other fields of image analysis besides shape analysis, such as texture analysis (Epifanio et al., 2009). Finally, in order to introduce the methodology more easily, we have restricted the analysis to two dimensional outlines, but FDA can be used for surfaces (multidimensional functions with two arguments). In fact, in the future, we are going to work in three dimensions in the hippocampal analysis. The methodology presented can be extended for functions with two (or more) arguments.

## Acknowledgements

This work has been supported by CICYT TIN2009-14392-C02-01 and MTM2009-14500-C02-02, GV/2011/004 and Bancaixa-UJI P11A2009-02. The authors thank V. Belloch and C. Ávila for their support, and also the reviewers and editors for their comments on improving this study. A preliminary version was presented at the 1st International Workshop on Functional and Operatorial Statistics (IWFOS'2008) (Epifanio and Ventura, 2008).

## References

Ambroise, C., McLachlan, G. J., 2002. Selection bias in gene extraction on the basis of microarray gene-expression data. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (10), 6562–6566.

- Barrientos-Marin, J., Ferraty, F., Vieu, P., 2010. Locally modelled regression and functional data. *Journal of Nonparametric Statistics* 22 (5), 617–632.
- Berrendero, J.R., Justel, A., Svarc, M., 2011. Principal components for multivariate functional data. *Computational Statistics and Data Analysis*, doi:10.1016/j.csda.2011.03.011.
- Biau, G., Bunea, F., Wegkamp, M., 2005. Functional classification in Hilbert spaces. *IEEE Transactions on Information Theory* 51, 2163–2172.
- Burba, F., Ferraty, F., Vieu, P., 2009. k-Nearest Neighbour method in functional nonparametric regression. *Journal of Nonparametric Statistics* 21 (4), 453–469.
- Cheung, Y., Xu, L., 1999. MSE reconstruction criterion for independent component ordering in ICA time series analysis. In: *Proceedings of the IEEE-EURASIP Workshop on Nonlinear Signal and Image Processing*. pp. 793–797.
- Delicado, P., 2011. Dimensionality reduction when data are density functions. *Computational Statistics and Data Analysis* 55 (1), 401-420.
- Domingo, J., Nacher, B., de Ves, E., Alcantara, E., Díaz, E., Ayala, G., Page, A., 2005. Quantifying mean shape and variability of footprints using mean sets. In: *Proceedings of the 7th International Symposium on Mathematical Morphology*. Springer, pp. 455–464.
- Dryden, I., 2007. shapes: Statistical shape analysis.  
URL <http://www.maths.nott.ac.uk/~ild/shapes>
- Dryden, I. L., Mardia, K. V., 1998. *Statistical Shape Analysis*. Wiley, Chichester.
- Epifanio, I., 2008. Shape descriptors for classification of functional data. *Technometrics* 50 (3), 284–294.
- Epifanio, I., Domingo, J., Ayala, G., 2009. Texture classification by functional analysis of size distributions. In: *Proceedings of the 11th IASTED International Conference on Signal and Image Processing*. pp. 172–177.



- Epifanio, I., Ventura, N., 2008. Multivariate Functional Data Discrimination Using ICA: Analysis of Hippocampal Differences in Alzheimer’s Disease. *Contributions to Statistics*. Springer, Ch. 25, pp. 157–163.
- Ferraty, F., Romain, Y., 2011. *The Oxford Handbook of functional data analysis*. Oxford University Press.
- Ferraty, F., Vieu, P., 2003. Curves discrimination: a nonparametric functional approach. *Computational Statistics and Data Analysis* 44, 161–173.
- Ferraty, F., Vieu, P., 2006. *Nonparametric Functional Data Analysis: Theory and Practice*. Springer.
- Ferré, L., Villa, N., 2006. Multilayer perceptron with functional inputs: an inverse regression approach. *Scandinavian Journal of Statistics* 33 (4), 807–823.
- González, R., Woods, R., Eddins, S., 2004. *Digital image processing using MATLAB*. Prentice Hall.
- González-Manteiga, W., Vieu, P., 2007. Statistics for functional data. *Computational Statistics and Data Analysis* 51 (10), 4788–4792.
- Gower, J. C., 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53, 325–338.
- Grundman, M., Petersen, R., Ferris, S., Thomas, R., Aisen, P., Bennet, D., Foster, N., Jack, C., Galasho, D., Dondy, R., Kaye, J., Sano, M., 2004. Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Arch. Neurol* 61, 59–66.
- Hall, P., Poskitt, D., Presnell, B., 2001. A functional data-analytic approach to signal discrimination. *Technometrics* 43, 1–9.
- Hasboun, D., Chantôme, M., Zouaoui, A., Sahel, M., Deladoeuille, M., Sourour, N., Duyme, M., Baulac, M., Marsault, C., Dormont, D., 1996. MR determination of hippocampal volume: Comparison of three methods. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 17, 1091–1098.
- Hastie, T., Buja, A., Tibshirani, R., 1995. Penalized discriminant analysis. *Annals of Statistics* 23, 73–102.

- Hastie, T., Tibshirani, R., 2006. *mda: Mixture and flexible discriminant analysis*. R port by Leisch, F., Hornik, K. and Ripley, B. D.
- Hastie, T., Tibshirani, R., Friedman, J., 2009. *The Elements of Statistical Learning. Data mining, inference and prediction*, 2nd Edition. Springer-Verlag.
- Horgan, G. W., 2000. Principal component analysis of random particles. *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 12, 169–175.
- Hyndman, R. J., Shang, H. L., 2010. Rainbow plots, bagplots and boxplots for functional data. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 19 (1), 29–45.
- Hyvärinen, A., 1999. Fast and robust fixed-point algorithms for independent component analysis, <http://www.cis.hut.fi/projects/ica/fastica/>. *IEEE Transactions on Neural Networks* 10 (3), 626–634.
- Hyvärinen, A., Karhunen, J., Oja, E., 2000. *Independent component analysis: Algorithms and applications*. *Neural Networks* 13, 411–430.
- Hyvärinen, A., Karhunen, J., Oja, E., 2001. *Independent component analysis*. Wiley, New York.
- Jack, C. R., Petersen, R. C., Xu, Y. C., O'Brien, P. C., Smith, G. E., Ivnik, R. J., Boeve, B. F., Waring, S. C., Tangalos, E. G., Kokmen, E., 1999. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology* 52, 1397–1403.
- James, G. M., Silverman, B., 2005. Functional adaptive model estimation. *Journal of the American Statistical Association* 100, 565–576.
- Jolliffe, I. T., 2002. *Principal Component Analysis*, 2nd Edition. Springer.
- Kindratenko, V. V., 2003. On using functions to describe the shape. *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 18, 225–245.
- Li, B., Yu, Q., 2008. Classification of functional data: A segmentation approach. *Computational Statistics and Data Analysis* 52 (10), 4790–4800.

- Li, P. L., Chiou, J. M., 2011. Identifying cluster number for subspace projected functional data clustering. *Computational Statistics and Data Analysis* 55 (6), 2090–2103.
- López-Pintado, S., Romo, J., 2011. A half-region depth for functional data. *Computational Statistics and Data Analysis* 55 (4), 1679–1695.
- Marx, B., Eilers, P., 1999. Generalized linear regression on sampled signals and curves: a P-spline approach. *Technometrics* 41, 1–13.
- Mungas, D., Jagust, W. J., Reed, B. R., Kramer, J. H., Weiner, M. W., Schuff, N., Norman, D., Mack, W. J., Willis, L., Chui, H. C., 2001. MRI predictors of cognition in subcortical ischemic vascular disease and Alzheimer’s disease. *Neurology* 57, 2229–2235.
- Nettel-Aguirre, A., 2008. Nuclei shape analysis, a statistical approach. *Image Analysis and Stereology* 27, 1–10.
- Petersen, R. C., 2004. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med* 256, 183–194.
- R Development Core Team, 2010. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, ISBN 3-900051-07-0.  
URL <http://www.R-project.org>
- Ramsay, J. O., Hooker, G., Graves, S., 2009. *Functional Data Analysis with R and MATLAB*. Springer.
- Ramsay, J. O., Silverman, B. W., 2002. *Applied Functional Data Analysis*. Springer.
- Ramsay, J. O., Silverman, B. W., 2005. *Functional Data Analysis*, 2nd Edition. Springer.
- Ripley, B. D., 1996. *Pattern recognition and neural networks*. Cambridge University Press.
- Rossi, F., Conan-Guez, B., 2005. Functional multi-layer perceptron: a non-linear tool for functional data analysis. *Neural Networks* 18 (1), 45–60.

- Rossi, F., Villa, N., 2006. Support vector machine for functional data classification. *Neurocomputing* 69 (7–9), 730–742.
- Särelä, J., Vigário, R., 2003. Overlearning in marginal distribution-based ICA: analysis and solutions. *Journal of Machine Learning Research* 4, 1447–1469.
- Shepstone, L., Rogers, J., Kirwan, J., Silverman, B., 1999. The shape of the distal femur: a palaeopathological comparison of eburnated and non-eburnated femora. *Annals of the Rheumatic Diseases* 58, 72–78.
- Shepstone, L., Rogers, J., Kirwan, J., Silverman, B., 2000. Distribution of distal femoral osteophytes in a human skeletal population. *Annals of the Rheumatic Diseases* 59, 513–520.
- Simó, A., de Ves, E., Ayala, G., 2004. Resuming shapes with applications. *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 20, 209–222.
- Soille, P., 2003. *Morphological Image Analysis. Principles and Applications*, 2nd Edition. Springer-Verlag.
- Stoyan, D., Stoyan, H., 1994. *Fractals, Random Shapes and Point Fields. Methods of Geometrical Statistics*. Wiley.
- Styner, M., Lieberman, J. A., Pantazis, D., Gerig, G., 2004. Boundary and medial shape analysis of the hippocampus in schizophrenia. *Medical Image Analysis Journal* 8 (3), 197–203.
- Venables, W. N., Ripley, B. D., 2002. *Modern applied statistics with S-plus*. Springer.
- Wang, L., Swank, J. S., Glick, I. E., Gado, M. H., Miller, M. I., Morris, J. C., Csernanskya, J. G., 2003. Changes in hippocampal volume and shape across time distinguish dementia of the Alzheimer type from healthy aging. *NeuroImage* 20, 667–682.
- Watson, C., Andermann, F., Gloor, P., Jones-Gotman, M., Peter, T., A., E., Olivier, A., Melanson, D., G., L., 1992. Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* 42 (9), 1743–1750.

## Parte II

### Estudio 2:

Hippocampal shape in Alzheimer's  
disease using Functional data  
analysis.

Epifanio I. and Ventura-Campos N.  
*Biostatistics* [2]



# Hippocampal shape analysis in Alzheimer's disease using Functional Data Analysis

IRENE EPIFANIO\*

*Dept. Matemàtiques, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain*

epifanio@uji.es

NOELIA VENTURA-CAMPOS

*Dept. Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain*

## SUMMARY

The hippocampus is one of the first affected regions in Alzheimer's disease. Left hippocampi of controls, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease patients of a database are represented by spherical harmonics. Functional data analysis is used in the hippocampal shape analysis. Functional principal component analysis and functional independent component analysis are defined for multivariate functions with two arguments. A functional linear discriminant function is also defined. Comparisons with other approaches are carried out. Our functional approach gives promising results, especially in shape classification.

*Key words:* Functional data analysis; Shape analysis; Alzheimer's disease; Principal component analysis; Independent component analysis; Discriminant analysis.

\*To whom correspondence should be addressed.

## 1. INTRODUCTION

The early diagnosis of Alzheimer's disease (AD) is a crucial issue in our society, because the administration of medicines to individuals who are subtly impaired may render the treatments more effective. Mild cognitive impairment (MCI) is considered as a diagnostic entity within the continuum of cognitive decline towards AD in old age (Grundman *and others*, 2004; Petersen, 2004). Longitudinal studies show a direct relation between the hippocampal volume decrease in and cognitive decline (Jack *and others*, 1999; Mungas *and others*, 2001). However, volumetric measurements are simplistic features and structural changes at specific locations cannot be reflected in them. If morphological changes could be established, then this should enable researchers to gain an increased understanding of the condition. This is the reason why nowadays shape analysis is of a great importance in neuroimaging (Styner *and others*, 2004).

Several shape modeling approaches have been considered in the neuroimaging literature. One of them is the medial representation, where the binary object is represented using a set of atoms and links that connect the atoms together to form a skeletal representation of the object. Styner *and others* (2003) applied this scheme to hippocampi and other human brain structures. The distance map approach has been applied in classifying a collection of hippocampi in Golland *and others* (2001). In a distant map the distance from each point in the image to the boundary of the object is computed. Other approaches include deformation fields obtained by warping individual substructures to a template, such as the paper of Joshi *and others* (1997) applied to the hippocampus, or the landmark approach used with hippocampi by Park *and others* (2008) or Shen *and others* (2012). Instead of the previous non-parametric models, a parametric approach, which has been successfully applied to model various subcortical structures, is the spherical harmonic representation (SPHARM) (Gerig *and others*, 2001; Gu *and others*, 2004; Shen *and others*, 2004; Chung *and others*, 2007; L. Shen and McPeck, 2009; Gerardin *and others*, 2009; Chung *and others*, 2010). Each individual surface is parameterized by a set of coefficients



weighting the basis functions: the spherical harmonics or its weighted version (the weighted spherical harmonic representation). [Styner and others \(2004\)](#) compared the sampled boundary implied by the SPHARM description with the medial shape description, obtaining good concordance between both descriptions. Other works propose global features which discriminate the condition ([Beg and others, 2012](#)). It is quite common to use some of these approaches with a principal component analysis for shape classification and group comparison.

The spherical harmonic representation is a particular case of representing functional data as smooth functions. The whole surface is modeled from a set of points belonging to the surface. Functional data are observed discretely although a continuous function lies behind these data. In order to convert the discrete observations into a true functional form, each function is approximated (smoothed) by a weighted sum (a linear combination) of known basis functions. Functional data analysis (FDA) provides statistical procedures for functional observations (a whole function is a datum). The goals of FDA are basically the same as those of any other branch of statistics. [Ramsay and Silverman \(2005\)](#) give an excellent overview. [Ferraty and Vieu \(2006\)](#) provide a complementary and very interesting view on nonparametric methods for functional data. A mixture of practical and theoretical aspects is found in [Ferraty and Romain \(2011\)](#). The field of FDA is quite new and there is still a lot of work to be done, but in recent years several applications have been developed in different fields, especially in human health ([Ramsay and Silverman, 2002](#); [Arribas-Gil and Romo, 2012](#); [Inácio and others, 2012](#)).

In [Epifanio and Ventura-Campos \(2011\)](#) two-dimensional (2D) shapes were analyzed from the three point of views considered by [Stoyan and Stoyan \(1994\)](#) for describing shapes: firstly, set descriptors; secondly, using landmarks (point description); and thirdly, employing a function describing the contours. The results were compared with these three approaches (the set theory approach, the landmark based approach and the functional approach) in two of the main problems in form statistics: the study of the main sources of variation among the shapes (principal

component analysis, PCA), and classification among different classes (discriminant analysis). The analysis of contour functions by FDA gave more meaningful results in both problems.

In this work, the hippocampus surface is described by multivariate (three) functions with two arguments. In Section 2, the methodology is introduced, together with our data. We discuss the extension of the PCA to deal with trivariate functional data with two arguments. A discriminant function based on independent component analysis (ICA) is defined for indicating where the differences between groups are and what their level of discrimination is. In Section 3 the methodology is applied to the analysis of structural magnetic resonance imaging (sMRI) scans for studying the hippocampal differences among the subjects of three groups: cognitively normal (CN) subjects, patients with mild cognitive impairment (MCI), and patients with early Alzheimer’s disease (AD). Comparison with other works is carried out. Finally, conclusions and some open problems are discussed in Section 4.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1 *Brain sMRI scans processing*

A total of 28 individuals are analyzed in this study, whose description is in Table 1. All the individuals were recruited from the Neurology Service at La Magdalena Hospital (Castelló, Spain) and the Neuropsychology Service at the Universitat Jaume I. All experimental procedures complied with the guidelines of the ethical research committee at the Universitat Jaume I. Written informed consent was obtained from every subject or their appropriate proxy prior to participation. Selection for the participant group was made after careful neurological and neuropsychological assessment. The neuropsychological test battery involved Digit Span, Similarities, Vocabulary, and Block Design of the WAIS-III; Luria’s Watches test, and Poppelreuters Overlapping Figure test. sMRI were acquired on a 1.5T scanner (General Electric). A whole brain high resolution T1-weighted anatomical reference scan was acquired (TE 4.2 ms, TR 11.3 ms, FOV 24 cm; matrix

=  $256 \times 256 \times 124$ , 1.4 mm-thick coronal images).

Hippocampi were traced manually on contiguous coronal slices (or sections) following the guidelines of [Watson \*and others\* \(1992\)](#), and [Hasboun \*and others\* \(1996\)](#). The hippocampus segmentation was done by an expert tracer with MRicro software, blinded to the clinical data of the study subjects. The segmentation of each hippocampus lasted approximately 40 minutes. An example of the left and right hippocampal contour (drawn in white) in a coronal view is shown in [Figure 1 \(a\)](#), while a sagittal view of one of the hippocampus can be seen in [Figure 1 \(b\)](#). Images were visually reoriented. The anterior commissure–posterior commissure (ACPC) line was identified and the images were then reoriented parallel to it. The slices were put together using the isosurface function in Matlab, which gives the vertices and faces of the triangle mesh.

## 2.2 Surface parametrization

In 2D the contour is a closed planar curve that consists of the elements of the figure boundary. The contour parametrization by its arc length can be applied to any contour (note that other contour functions have limitations, see [Kindratenko \(2003\)](#) for a review of various contour functions).

This method has been extended to represent analogously the surfaces of closed 3D objects. In this case, instead of two parametric functions with one parameter, three functions with two angular parameters are needed:  $x(\theta, \phi)$ ,  $y(\theta, \phi)$ ,  $z(\theta, \phi)$  (see [L. Shen and McPeck \(2009\)](#) for a detailed explanation). Specifically, a surface is mapped onto a unit sphere under a bijective mapping. However, unlike the 2D case, some practical problems prevent this mapping from being completely straightforward. In fact, this one-to-one mapping can be obtained from various surface flattening techniques such as conformal mapping ([Gu \*and others\*, 2004](#)), semi-isometric mapping ([Timsari and Leahy, 2000](#)), area preserving mapping ([Brechtbühler \*and others\*, 1995](#); [Shen \*and others\*, 2004](#)) and the deformable surface algorithm ([Macdonald \*and others\*, 2000](#)). Since the conformal mapping tends to introduce huge area distortion, area preserving mapping is

widely used. However, these flattening methods are not trivial to implement and computationally insensitive. Here, we use a new alternative proposed recently in [Chung and others \(2010\)](#). The mapping is based on the equilibrium state of heat diffusion. The idea is tracing the geodesic path of heat equilibrium state from a heat source (hippocampus in this case) to a heat sink (sphere). As solving an isotropic heat equation in a 3D image volume is computationally trivial, this flattening technique is numerically simpler than any other available methods and does not require optimizing a cost function. Details about this method can be found in [Chung and others \(2010\)](#).

Once the surface is mapped onto the sphere, the angles serve as coordinates for representing hippocampus surfaces using basis functions.

### 2.3 Representing functions by basis functions

The first step in FDA is the conversion from discrete data to functions by smoothing. Linear combinations of basis functions are used for representing functions. We have chosen as basis the spherical harmonics, because they have been already used in similar structures with excellent results, furthermore its orthogonality has computational advantages. Other possible basis could be the weighted Fourier series ([Chung and others, 2007](#)), spherical splines ([Alfeld and others, 1996](#); [He and others, 2005](#)) or spherical wavelets ([Nain and others, 2007](#); [Yu and others, 2007](#)).

Although complex-valued spherical harmonics could be used as in [Gerig and others \(2001\)](#); [Shen and others \(2004\)](#), we have preferred to used real spherical harmonics as in [Chung and others \(2007, 2010\)](#), considering that most applications of spherical harmonics require only real-valued spherical functions, and for convenience in setting up a real-valued stochastic model.

A real basis of spherical harmonics is given by ( $l$  is the degree and  $m$  is the order):

$$Y_{lm}(\theta, \varphi) = \begin{cases} \sqrt{2}N_{(l,m)}\cos(m\varphi)P_l^m(\cos\theta) & \text{if } m > 0 \\ N_{(l,0)}P_l^0(\cos\theta) & \text{if } m = 0 \\ \sqrt{2}N_{(l,|m|)}\sin(|m|\varphi)P_l^{|m|}(\cos\theta) & \text{if } m < 0 \end{cases} \quad (2.1)$$

where  $N_{(l,m)} = \sqrt{\frac{2l+1}{4\pi} \frac{(l-m)!}{(l+m)!}}$  and  $P_l^m$  is the associated Legendre polynomial of order  $m$  defined over the range  $[-1, 1]$ :  $P_l^m(x) = \frac{(-1)^m}{2^l l!} (1-x^2)^{m/2} \frac{d^{l+m}}{dx^{l+m}} (x^2-1)^l$ .

Let  $S^2$  be the unit sphere in  $\mathbb{R}^3$ , and  $f$  and  $g \in L^2(S^2)$ . The inner product is defined by

$$\langle f, g \rangle = \int_{\theta=0}^{\pi} \int_{\varphi=0}^{2\pi} f(\theta, \varphi) g(\theta, \varphi) d\Omega = \int_{S^2} f(\theta, \varphi) g(\theta, \varphi) d\Omega = \int_{S^2} f g d\Omega \quad (2.2)$$

where  $d\Omega = \sin(\theta) d\varphi d\theta$ . With respect to the inner product, the spherical harmonics satisfy the orthonormal condition:  $\int_{S^2} Y_{lm} Y_{l'm'} d\Omega = \delta_{ll'} \delta_{mm'}$ , where  $\delta_{ij}$  is the Kronecker's delta.

The three functions are independently expressed in terms of the spherical harmonic as:  $x(\theta, \varphi) = \sum_{l=0}^L \sum_{m=-l}^l c_{lm}^x Y_{lm}(\theta, \varphi)$ ,  $y(\theta, \varphi) = \sum_{l=0}^L \sum_{m=-l}^l c_{lm}^y Y_{lm}(\theta, \varphi)$  and  $z(\theta, \varphi) = \sum_{l=0}^L \sum_{m=-l}^l c_{lm}^z Y_{lm}(\theta, \varphi)$ .  $L$  is the maximal degree of the representation, which determines the degree to which data are smoothed. As we know the values of each function in a sample of points  $\{(\theta_i, \varphi_i)\}_{i=1}^n$ , the coefficients can be estimated by least squares. In the case of  $x(\theta, \varphi)$  (analogously for the other two functions), let  $\mathbf{x} = \{x(\theta_i, \varphi_i)\}_{i=1}^n$  be the vector of observations,  $\mathbf{c}^x$  the vector containing the coefficients  $c_{lm}^x$  and  $\mathbf{Y} = \{Y_{lm}(\theta_i, \varphi_i)\}_{i=1}^n$  the matrix of basis function values at the observation points, then  $\mathbf{c}^x = (\mathbf{Y}'\mathbf{Y})^{-1}\mathbf{Y}'\mathbf{x}$ . If the size of the linear equation is extremely large, the coefficients can be also estimated in a least squares fashion by the iterative residual fitting (IRF) algorithm (Chung and others, 2007). Finally, a vector-valued function can be built  $F(\theta, \varphi) = (x(\theta, \varphi), y(\theta, \varphi), z(\theta, \varphi))' = \sum_{l=0}^L \sum_{m=-l}^l \mathbf{c}_{lm} Y_{lm}(\theta, \varphi)$ , where  $\mathbf{c}_{lm} = (c_{lm}^x, c_{lm}^y, c_{lm}^z)'$ .

For the hippocampi,  $L = 15$  was empirically chosen, which results in an acceptable degree of smoothing.

Sometimes, a registration or alignment is then carried out. However, in this case it is not necessary as the location was removed previously by translating each hippocampus to the same point in such a way that its centroid coincides with that point ((25,25,25) in our case). Note that the centre of the sphere for the surface parametrization is on each hippocampal centroid, as in Chung and others (2010). Furthermore, all the hippocampi have the same orientation, so no rotation is needed. As size information (volume is a usual discriminatory feature) is important,

no scaling correction is carried out, so we analyze the form, otherwise scale can be removed by dividing through the centroid's size at the beginning as in [Epifanio and Ventura-Campos \(2011\)](#). Here, no further alignment is necessary, as in [Chung \*and others\* \(2010\)](#), since the coordinates  $((\theta, \varphi))$  on two surfaces are corresponding pairs, and therefore the coefficients match each other. For other kind of the surface parametrization, an alignment could be necessary as explained in [L. Shen and McPeck \(2009\)](#), where landmarks are used for registration. In this paper the arguments are angles, but when the argument is time, functions usually exhibit two kind of variation: amplitude and phase variation. The first one accounts for the size of the shape features in the functions, whereas the second one refers to the location of the features. In case that we had phase variation, the algorithm combining registration with principal components analysis in [Kneip and Ramsay \(2008\)](#) could be used, where decomposition of functional variation into amplitude and phase partitions is defined.

#### 2.4 Functional PCA (FPCA)

For studying the main sources of variation among the hippocampi, principal component analysis is used. In order to see how PCA works in the functional context, let us recall PCA for Multivariate Data Analysis (MDA). Shortly, summations change into integrations. In MDA, principal components are obtained by solving the eigenequation

$$\mathbf{V}\xi = \rho\xi, \tag{2.3}$$

where  $\mathbf{V}$  is the sample variance-covariance matrix,  $\mathbf{V} = (N - 1)^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{X}$  is the centered data matrix,  $N$  is the number of subjects observed, and  $\mathbf{X}'$  indicates the transpose of  $\mathbf{X}$ . Moreover,  $\rho$  and  $\xi$  are an eigenvalue and an eigenvector of  $\mathbf{V}$ , respectively.

In the functional version of PCA, PCs are replaced by functions. Let  $\{x_1(t), \dots, x_N(t)\}$  be the set of observed functions. The mean function is defined as the average of the functions point-wise across replications ( $\bar{x}(t) = N^{-1} \sum_{i=1}^N x_i(t)$ ). If data have been centered (the mean function

has been subtracted), the covariance function  $v(s,t)$  is defined analogously by  $v(s,t) = (N - 1)^{-1} \sum_{i=1}^N x_i(s)x_i(t)$ . As explained in Ramsay and Silverman (2005, Chapter 8), the functional counterpart of equation 2.3 is the following functional eigenequation

$$\int v(s,t)\xi(t)dt = \rho\xi(s), \quad (2.4)$$

where  $\rho$  is still an eigenvalue, but where  $\xi(s)$  is an eigenfunction of the variance-covariance function, rather than an eigenvector. Now, the principal component score corresponding to  $\xi(s)$  is computed by using the inner product for functions:  $s_i = \int x_i(s)\xi(s)ds$ . Note that for multivariate data, the index  $s$  is not continuous, but a discrete index  $j$  replaces it:  $s_i = \sum_j x_{ij}\xi_j$ .

For solving the eigenequation 2.4, the original functions could be discretized. However, we will work with the coefficients of the functions expressed as a linear combination of known basis functions. If the basis is orthonormal, FPCA reduces to the standard multivariate PCA of the coefficient array, as explained in Ramsay and Silverman (2005, Sec. 8.4.2), where computational methods for FPCA are reviewed. This reduces the amount of information generated.

With regard to the number of PCs that can be computed, let us note that in the functional context, “variables” now correspond to values of  $t$ , and there is no limit to these. Therefore, a maximum of  $N - 1$  components can be computed. However, if the number of basis functions  $M$  representing the functions is less than  $N$ ,  $M$  would be the maximum.

**2.4.1 FPCA with multiple functions and multiple arguments** Let  $\{F_i(\theta, \varphi)\}_{i=1}^N$  be the set of observed functions. Each  $F_i$  consists of three functional data with two arguments representing one hippocampus  $((x_i(\theta, \varphi), y_i(\theta, \varphi), z_i(\theta, \varphi))$ . Three mean functions  $(\bar{x}(\theta, \varphi), \bar{y}(\theta, \varphi), \bar{z}(\theta, \varphi))$  and three covariance functions  $(v_{XX}((\theta, \varphi), (\vartheta, \phi)), v_{YY}((\theta, \varphi), (\vartheta, \phi)), v_{ZZ}((\theta, \varphi), (\vartheta, \phi)))$  can be computed pointwisely as before for each kind of function, respectively. We can calculate the cross-covariance function of the centered data by (analogously for the combination  $XZ$  and  $YZ$ )  $v_{XY}((\vartheta, \phi), (\theta, \varphi)) = (N - 1)^{-1} \sum_{i=1}^N x_i(\vartheta, \phi)y_i(\theta, \varphi)$ .

An inner product on the space of vector-valued functions is defined by summing the inner products of the components (defined in 2.2) as

$$\langle F_1, F_2 \rangle = \langle x_1, x_2 \rangle + \langle y_1, y_2 \rangle + \langle z_1, z_2 \rangle. \quad (2.5)$$

A typical PC is defined by a three-vector  $\xi = (\xi_X, \xi_Y, \xi_Z)$  of weight functions. Now, the PC score for the  $i$ -th function is computed by  $s_i = \langle F_i, \xi \rangle = \int_{S^2} x_i \xi_X d\Omega + \int_{S^2} y_i \xi_Y d\Omega + \int_{S^2} z_i \xi_Z d\Omega$ . PCs are solutions of the eigenequation system  $V\xi = \rho\xi$ , which in this case can be written as

$$\begin{aligned} \int_{S^2} v_{XX}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_X(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{XY}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Y(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{XZ}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Z(\theta, \varphi) d\Omega &= \rho \xi_X(\vartheta, \phi) \\ \int_{S^2} v_{YX}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_X(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{YY}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Y(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{YZ}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Z(\theta, \varphi) d\Omega &= \rho \xi_Y(\vartheta, \phi) \\ \int_{S^2} v_{ZX}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_X(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{ZY}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Y(\theta, \varphi) d\Omega + \int_{S^2} v_{ZZ}(\vartheta, \phi, \theta, \varphi) \xi_Z(\theta, \varphi) d\Omega &= \rho \xi_Z(\vartheta, \phi). \end{aligned} \quad (2.6)$$

To solve the eigenequation system, each function in the vector-function  $F_i$  is replaced by a vector of basis coefficients, and a single vector is built by joining them together. Then, if  $\mathbf{c}^i = (\{c_{ilm}^x\}, \{c_{ilm}^y\}, \{c_{ilm}^z\})$  is that vector of coefficients for  $F_i$ , with  $l = 0, \dots, L$  and  $m = -l$  to  $l$ , a matrix  $\mathbf{C}$  with  $N$  rows (one per individual) can be built stacking those vectors. As spherical harmonics are orthonormal, we only need to compute the PCA of  $\mathbf{C}$ . When PCs have been computed, we separate the parts belonging to each coordinate, as explained in [Ramsay and Silverman \(2005, Sec. 8.5.1\)](#) for bivariate FPCA with one argument. Note that the computation is reduced when we work with the coefficients instead of using a lot of variables obtained by discretizing the original functions in a fine grid. With  $L = 15$  we have 256 coefficients per coordinate, a total of 756 coefficients (variables). However, for a grid of 2562 vertices on the sphere, the number of variables rises to 7686.

Each eigenvalue  $\rho$  divided by the sum of all eigenvalues gives the proportion of variance explained by each eigenfunction, as in the multivariate case. Furthermore, for the  $j$ -th principal component  $\xi^j = (\xi_X^j, \xi_Y^j, \xi_Z^j)$ , the variation accounted for each coordinate can be computed by  $\langle \xi_X^j, \xi_X^j \rangle$ ,  $\langle \xi_Y^j, \xi_Y^j \rangle$  and  $\langle \xi_Z^j, \xi_Z^j \rangle$  respectively, because their sum is one by definition.



## 2.5 Functional ICA (FICA)

ICA was successfully used for the classification of univariate functions in [Epifanio \(2008\)](#), where was compared with classical and the most recent advances in univariate functional data classification giving results better than or similar to those obtained using the previous techniques in three different problems. Concretely, the proposed descriptors were compared with the methodology introduced in [Hastie and others \(1995\)](#), in [Ferraty and Vieu \(2003\)](#) including the multivariate partial least-squares regression (MPLSR) method in its semi-metric and PCA, in [Rossi and Conan-Guez \(2005\)](#), in [Ferré and Villa \(2006\)](#), in [Rossi and Villa \(2006\)](#), and as [Li and Yu \(2008\)](#) use the same example, we can also compare the results in [Epifanio \(2008\)](#) with those of [Li and Yu \(2008\)](#) (see [Epifanio \(2008\)](#) for details). That methodology was extended to the multivariate case with one argument in [Epifanio and Ventura-Campos \(2011\)](#), where the best discriminant results were obtained with the ICA coefficients compared with FPCA and other alternatives (the penalized discriminant analysis proposed by [Hastie and others \(1995\)](#) and the nonparametric curve discrimination method with the semi-metric based on FPCA and MPLSR introduced by [Ferraty and Vieu \(2003\)](#)) in the functional approach, and the set and landmark approach. Here we extend the methodology for multivariate functions with two (or more) arguments.

Let us recall ICA for MDA. Assume that the data matrix  $\mathbf{X}$  is a linear combination of non-Gaussian (independent) components i.e.  $\mathbf{X} = \mathbf{S}\mathbf{A}$  where columns of  $\mathbf{S}$  contain the independent components and  $\mathbf{A}$  is a linear mixing matrix. ICA attempts to “un-mix” the data by estimating an un-mixing matrix  $\mathbf{W}$  with  $\mathbf{X}\mathbf{W} = \mathbf{S}$ . Under this generative model, the measured “signals” in  $\mathbf{X}$  will tend to be “more Gaussian” than the source components (in  $\mathbf{S}$ ) due to the Central Limit Theorem. Thus, in order to extract the independent components or sources, we search for an un-mixing matrix  $\mathbf{W}$  that maximizes the non-gaussianity of the sources.

For univariate functions, assume that we observe  $N$  linear mixtures  $x_1(t), \dots, x_N(t)$  of  $K$  independent components  $s_j(t)$ :  $x_i(t) = \sum_{j=1}^K a_{ij}s_j(t)$ , for all  $i$ . Each pair  $s_j(t)$  and  $s_k(t)$ , at each

time instant  $t$ , are statistically independent. In practice, we have discretized functions ( $\mathbf{x}_i = \{x_i(t_k); k = 1, \dots, p\}$ ), therefore we can consider the  $p \times N$  data matrix  $\mathbf{X} = \{x_i(t_k)\}$ .

However, unlike our previous works with one argument, instead of discretizing the functions we will work with the coefficients in a functional basis for reducing the computational burden. Suppose that each function has basis expansion:  $x_i(t) = \sum_{m=1}^M b_{im} G_m(t)$ . If we define  $x$  a vector-valued function with components  $x_1, \dots, x_N$ , and  $G$  the vector-valued function with components  $G_1, \dots, G_M$ , we can express the simultaneous expansion of all  $N$  functions as:  $x = \mathbf{B}G$ , where  $\mathbf{B}$  is the coefficient matrix, with size  $N \times M$ . If we perform ICA on  $\mathbf{B}'$ , we obtain  $\mathbf{B}' = \mathbf{S}_b \mathbf{A}_b$ , so we can consider  $x = \mathbf{B}G = \mathbf{A}_b' \mathbf{S}_b' G$ , i.e. the observed data  $x$  are generated by a process of mixing the  $K$  components  $I = \mathbf{S}_b' G$  (rows of  $\mathbf{S}_b'$  contain the independent components). The expansion of any function  $\tilde{x}(t)$  not included in the original  $x$  in terms of these ICA components will be of the form:  $\tilde{x}(t) = \sum_{j=1}^K \tilde{a}_j I_j(t)$ , with  $I_j(t)$  the  $j$ -th component of  $I$ . If we estimate  $I$  and  $G$  in  $p$  points ( $\{t_k; k = 1, \dots, p\}$ ), we can build the  $p \times K$  matrix  $\mathbf{I}$  and the  $p \times M$  matrix  $\mathbf{G}$ , and hence  $\mathbf{I} = \mathbf{G} \mathbf{S}_b$ . The  $K$ -vector  $\tilde{\mathbf{a}}$  containing the coefficients  $\tilde{a}_j$  can be easily obtained by least squares fitting (Ramsay and Silverman, 2005):  $\tilde{\mathbf{a}} = (\mathbf{I}'\mathbf{I})^{-1} \mathbf{I}' \tilde{\mathbf{x}}$ , where  $\tilde{\mathbf{x}} = \{\tilde{x}(t_k)\}_{k=1}^p$ . This yields  $\tilde{\mathbf{a}} = (\mathbf{S}_b' \mathbf{G}' \mathbf{G} \mathbf{S}_b)^{-1} \mathbf{S}_b' \mathbf{G}' \tilde{\mathbf{x}}$ . Analogously, for the  $G$  basis,  $\tilde{x}(t) = \sum_{m=1}^M \tilde{b}_m G_m(t)$ , and the  $M$ -vector  $\tilde{\mathbf{b}}$  containing the coefficients  $\tilde{b}_m$  can be computed as:  $\tilde{\mathbf{b}} = (\mathbf{G}'\mathbf{G})^{-1} \mathbf{G}' \tilde{\mathbf{x}}$ . When the basis  $G$  is orthonormal, meaning that  $\mathbf{G}'\mathbf{G}$  is the identity matrix :

$$\tilde{\mathbf{a}} = (\mathbf{S}_b' \mathbf{G}' \mathbf{G} \mathbf{S}_b)^{-1} \mathbf{S}_b' \mathbf{G}' \tilde{\mathbf{x}} = (\mathbf{S}_b' \mathbf{S}_b)^{-1} \mathbf{S}_b' \tilde{\mathbf{b}}. \quad (2.7)$$

If the functions have more than one argument, the discussion is identical. When having multivariate functional data, we can concatenate the coefficients for each function into a single long vector, as done in Sec. 2.4.1 for computing multivariate FPCA. In our case,  $\tilde{\mathbf{b}}$  would be  $(\mathbf{c}^i)'$ .

Before the application of the ICA algorithm, it is useful to reduce the dimension of the data previously by PCA (for details, see Hyvärinen *and others* (2000, Section 5)), thus reducing noise and preventing overlearning (Hyvärinen *and others*, 2001, Section 13.2). Therefore we compute

the PCA first, retaining a certain number of components, and then estimate the same number of independent components as the PCA reduced dimension.

2.5.1 *Functional linear discriminant* Functional linear discriminant can be used if the objective is also to discriminate between different groups and to understand the way in which these groups differ. The coefficients ( $\tilde{\mathbf{a}}$ ) for ICA components will constitute the feature vector used for the classification step, as made in [Epifanio \(2008\)](#) for univariate functions and [Epifanio and Ventura-Campos \(2011\)](#) for multivariate functions with one argument. The scores for functional PCs can also be used, although in [Epifanio and Ventura-Campos \(2011\)](#) the results were not so good as for ICA. The use of PCA is quite common before the classifier is applied, such as in [Beg and others \(2012\)](#) or [Shen and others \(2004\)](#) (although they did not applied PCA on the coefficients but on the landmarks: points estimated on the surfaces).

We propose to compute a linear discriminant vector function  $\lambda^j(\theta, \varphi) = (\lambda_X^j(\theta, \varphi), \lambda_Y^j(\theta, \varphi), \lambda_Z^j(\theta, \varphi))$  based on FICA as done in ([Ramsay and Silverman, 2002](#), Chapter 8) with FPCA. This function  $\lambda^j(\theta, \varphi)$  would be the functional counterpart of the linear discriminant or canonical variate ([Ripley, 1996](#), Chapter 3), therefore,  $d_i^j = \langle F_i, \lambda^j \rangle = \int_{S^2} x_i \lambda_X^j d\Omega + \int_{S^2} y_i \lambda_Y^j d\Omega + \int_{S^2} z_i \lambda_Z^j d\Omega$  would return the score or discriminant value of  $F_i$ . If we express both functions in the spherical harmonics base, due to the orthonormality,  $d_i^j$  is just the inner product of two vectors,  $d_i^j = (\lambda^j)(\mathbf{c}^i)'$ , where  $\lambda^j$  is the vector with the coefficients of  $\lambda^j(\theta, \varphi)$  in that base. In this way, the problem is reduced to find these coefficients in the spherical harmonic expansion.

Assume that there are  $Q$  groups, each of them with size  $N_i$  ( $\sum_{i=1}^Q N_i = N$ ) and we apply the standard linear discriminant analysis (LDA) to the  $K \times N$  matrix  $\mathbf{A}$  with the coefficients of the  $K$  ICA components. This yields a  $K \times r$  matrix  $\mathbf{L}$  ( $r = \min\{K, Q - 1\}$  is the number of discriminant functions) giving the  $r \times N$  matrix  $\mathbf{D}$  of discriminant values ( $\mathbf{D} = \mathbf{L}'\mathbf{A}$ ). By equation 2.7,  $\mathbf{A} = (\mathbf{S}'_{\mathbf{b}}\mathbf{S}_{\mathbf{b}})^{-1}\mathbf{S}'_{\mathbf{b}}\mathbf{C}'$ , where  $\mathbf{S}_{\mathbf{b}}$  is the  $3M \times K$  matrix containing the independent components of  $\mathbf{C}'$ ,

the  $N \times 3M$  matrix with the coefficients in the spherical harmonics base with  $L = 15$  (hence  $M = 256$ ). As we had  $\mathbf{D} = \mathbf{\Lambda}\mathbf{C}'$  where  $\mathbf{\Lambda}$  is the  $r \times 3M$  matrix with the coefficients of the  $r$  functions  $\lambda^j(\theta, \varphi)$  ( $j = 1, \dots, r$ ) in the spherical harmonic base ( $\lambda^j$  is the  $j$ -th row), then  $\mathbf{\Lambda} = \mathbf{L}'(\mathbf{S}'_{\mathbf{b}}\mathbf{S}_{\mathbf{b}})^{-1}\mathbf{S}'_{\mathbf{b}}$ .

As the problem has been reduced to a MDA problem (although the basis choice plays a key role), we can consider significance tests under the assumption of multivariate normality of the coefficients in  $\mathbf{A}$  (Rencher, 2002, Sec. 8.6) (ICA looks for non-gaussianity in  $\mathbf{S}$  not in  $\mathbf{A}$ ).

### 2.6 Visualization of the results

In order to display the effect of each functional PC, FICA component or discriminant function, a small set of suitable multiple (positive or negative) of the function in question is added to the the mean function (mean hippocampus), which can be displayed for each multiple separately. Furthermore, a vector map can be plotted: vectors can be drawn from the mean shape to the surface formed by the mean plus the multiple of the function in question. We can also color the mean hippocampus using the magnitude (norm) of those vectors.

Coefficients in FICA or in FPCA base (scores) and the discriminant values could be also plotted.

## 3. RESULTS

The main code (mostly in Matlab) and data are available at <http://www3.uji.es/~epifanio/RESEARCH/alzlda.rar>. Two valuable packages are: the SurfStat package (<http://www.math.mcgill.ca/keith/surfstat>) and its extension (<http://www.stat.wisc.edu/~mchung/research/amygdala/>) (Chung *and others*, 2010) and the FastICA package (Hyvärinen, 1999). The FastICA algorithm (which includes the PCA computation) with the default parameters is used for obtaining ICA.

We have only considered the left hippocampi as in Beg *and others* (2012) for illustrating

and assessing the proposed methodology. The database is quite small for obtaining valid medical conclusions, although the methodology could be used without modification with a larger database for the left and right hippocampi. The left hippocampal volume has been shown to be better at discriminating MCI status (Müller *and others*, 2007). The volume can be estimated as the sum of the slice areas, i.e. the number of pixels belonging to each segmented hippocampal slice.

### 3.1 Functional approach: FPCA and FICA

FPCA is carried out to describe the variability. The first three principal components explain 49.48% of the whole variance, made up of 24.73%, 14.15% and 10.60% respectively. 91.27% of the variability is explained by the first sixteen components. Figure 2 presents visual representations of the shape variation along the first three principal components. Figures in the supplementary material can help to interpret them. The first component correspond to a size component, mostly concentrated on the head and the tail, but also in the body. 45.25% of the variation in this component is due to the  $x$ -coordinates (27.17% and 27.58% due to the  $y$  and  $z$ -coordinates). Component 2 is focused on a part of the tail. In this component, 20.37% of variability comes from the  $y$ -coordinates, and the rest is divided between the  $x$  and  $z$ -coordinates. Finally, the third component is concentrated almost entirely on the whole tail. The proportion of the variability in this component is 41.81% for the  $y$ -coordinates (23.51% and 34.67% due to the  $x$  and  $z$ -coordinates).

It is interesting to distinguish between patients with AD, MCI and elderly CN subjects, however in the literature it is quite common to consider the pair-wise comparisons among the three groups. The important CN-MCI subproblem is analysed here. For a detailed analysis of the other problems, see the supplementary material.

In order to test the ability to classify the subjects into their correct group, cross-validation is performed using leave-one-out trials. In each trial, one subject is set aside and FPCA is performed

on the remaining subjects (the training set). On the one hand, the LDA classifier is trained with the first  $J$  PC scores of the training set. On the other hand, we compute (and record) the leave-one-out (LOU) prediction error for that training set. The test subject is projected onto the same principal components obtained from training set alone, and classified with the trained LDA. This predicted class is preserved to produce the LOU estimate of the correct classification percentage for  $J$  components, since this process is repeated in turn for each of the subjects. Note that as FPCA is computed with different data, PCs from different iterations are not comparable, especially those with low variance. We have the estimated accuracy for various values of the number  $J$  of principal components. In order to select the appropriate number of components, we do not choose the best result, as the accuracy would be too optimistic, but a double or nested cross-validation is done. We consider the recorded LOU prediction errors for each training set, and build a matrix with them. The number of rows is the number of subjects whereas the number of columns is the total number of values  $J$  considered. We compute the mean for each column, and the model (value  $J$ ) selected is that one which gives the smallest mean (in case of tie, we select that with less components, the most parsimonious). Hence, the estimated classification accuracy is the estimated accuracy by LOU for the model selected by the nested LOU. Table 2 shows the results for FPCA together with the rest of methods.

The same cross-validation strategy considered for FPCA is followed with FICA, whose results are displayed in Table 2. Furthermore, we have computed the functional linear discriminant using all the subjects in the set for the number of components selected ( $J = 6$  in this subproblem). In Figure 3 it is visualized as explained in Sec. 2.6. It suggests a small loss in the CA1 and a part of the subiculum in the body of the hippocampus. The discriminant function significantly separates the groups (Wilks'  $\Lambda = 0.197$ , p-value = 0.002).

### 3.2 Comparative performance

We reproduce the methodology in [Chung \*and others\* \(2010\)](#) with our database. We perform multivariate linear modeling ([Taylor and Worsley, 2008](#)) on our spherical harmonic representation, testing the effect of group variable in the model. There is no statistically significant shape difference at  $\alpha=0.05$  when we test for group differences at each vertex of the hippocampal surface (see [Figure 4](#) displaying the F-statistic value on the mean hippocampus). Although testing of group mean difference and discriminant analysis are different problems (note that the coefficients for the discriminant function in MDA are derived so as to maximize the differences between the group means), we have included this result for highlighting the utility of the proposed discriminant function since significance maps of group differences usually appear in neuroimaging literature together with classification results ([Gerardin \*and others\*, 2009](#)).

The methodology in [Gerardin \*and others\* \(2009\)](#) is applied to our database: the SPHARM coefficients are classified with a support vector machine (SVM). Student's  $t$ -tests were used for determining which coefficients best separate the groups, with a bagging strategy (we use the same strategy but with the absolute value of the  $t$  statistic for really keeping only those coefficients which are always significantly different since it is a two tailed test). The result obtained with LOU is in [Table 2](#). The number of coefficients is selected by nested LOU. A linear kernel is considered, since better results are obtained than with radial basis functions with different scaling factors.

Recently, [Clemmensen \*and others\* \(2011\)](#) have proposed a sparse discriminant analysis (SDA) for the high-dimensional setting (the number of variables is large relative to the number of subjects). This method performs linear discriminant analysis with a sparseness criterion imposed such that classification and feature selection are performed simultaneously. SDA is applied to our SPHARM coefficients. We use the sparseLDA package with default parameters (except for the desired number of coefficients to be selected), which is available from <http://www2.imm.dtu.dk/~lhc/>. The result obtained with LOU is in [Table 2](#). The number of coefficients is chosen by nested LOU.

*Beg and others (2012)* proposed four shape features for discriminating CN vs MCI with left hippocampi. They reported the following accuracies for each set of features: 68.1% for 3D moment invariants features, 75% for 3D tensor invariant features, 77.3% for 3D Laplacian invariant features, and 86.3% for 3D geodesic shape invariants features. Note that in their database there are 26 CN and 18 MCI (a proportion similar to our database). Although results should be compared with caution since the databases are different, FPCA and FICA obtain better accuracies.

Other approaches, such as that in *Shen and others (2004)*, evaluate the spherical representation in a serie of parameter locations, obtaining the coordinates on the surface, and work with these landmarks (SPHARM-PDM from Point Distribution Model) for classification. We do not consider this approach since it is well-known that some regularization is necessary in order to obtain meaningful results (*Ramsay and Silverman, 2005*, Ch. 11, *Ramsay and Silverman, 2002*, Ch. 8). In fact, in Figure 4, where each spatial location is considered separately, there are a lot of small spots. However, in Figure 3 the discriminative zones are larger and more homogeneous.

#### 4. CONCLUSIONS

We have analysed the hippocampi using a FDA approach. FPCA and FICA with two arguments have been used for shape description and classification. A functional linear discriminant with FICA has been defined. To the best of our knowledge it has been used for first time in localizing the differences among groups instead of the significance maps, and meaningful results are obtained with it. Classification results are better with FPCA and FICA (both with identical results), than the other alternatives considered, showing that feature extraction is a powerful method (*Hastie and others, 2009*, Sec. 5.3.). The same conclusions are reached with the other subproblem considered in supplementary material.

Our sample size is small and we use LOU (with nested LOU for selecting the number of features) for assessing the method. With a larger database could be possible to split the data into



a training, validation and test set, and instead of selecting the number of features, the features could be selected (Rencher, 2002, Sec. 8.9.), and classification results could be improved.

The FDA approach is not restricted to hippocampi, it could be used with other structures. Furthermore, our methodology could be extended to deal with functional data combined with multivariate random variables. Ramsay and Silverman (2005, Ch. 10) defined FPCA of hybrid data (univariate functions with one argument together with a vector). Maybe it is interesting to consider the age, the education years or the intracranial volume, etc.

Finally, other interesting future topic includes using the FDA approach in other problems (such as Functional ANOVA or detection of outliers) with 3D shapes, for example for assessing the evolution along time in the same subjects in a longitudinal study.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank M. A. García and J. Epifanio and C. Ávila for their support. This research was supported by grants from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (PSI2010-20294 CONSOLIDER-INGENIO 2010 Programme CDS-2007-00012), CICYT TIN2009-14392-C02-01, MTM2009-14500-C02-02, GV/2011/004 and Bancaixa-UJI P11A2009-02. *Conflict of Interest:* None declared.

## REFERENCES

- ALFELD, P., NEAMTU, M. AND SCHUMAKER, L. L. (1996). Fitting scattered data on sphere-like surfaces using spherical splines. *Journal of Computational and Applied Mathematics* **73**(1-2), 5–43.
- ARRIBAS-GIL, A. AND ROMO, J. (2012). Robust depth-based estimation in the time warping model. *Biostatistics* **13**(3), 398–414.

- BEG, M. F., RAAMANA, P. R., BARBIERI, S. AND WANG, L. (2012). Comparison of four shape features for detecting hippocampal shape changes in early Alzheimers. *Statistical Methods in Medical Research* **published online 30 May 2012**(DOI: 10.1177/0962280212448975), 1–24.
- BRECHBÜHLER, CH., GERIG, G. AND KÜBLER, O. (1995). Parametrization of closed surfaces for 3-d shape description. *Computer Vision and Image Understanding* **61**(2), 154–170.
- CHUNG, M. K., DALTON, K. M., SHEN, L., EVANS, A. C. AND DAVIDSON, R. J. (2007). Weighted fourier series representation and its application to quantifying the amount of gray matter. *IEEE Transactions on Medical Imaging* **26**(4), 566–581.
- CHUNG, M. K., WORSLEY, K. J., NACEWICZ, B. M., DALTON, K. M. AND DAVIDSON, R. J. (2010). General multivariate linear modeling of surface shapes using surfstat. *NeuroImage* **53**(2), 491–505.
- CLEMMENSEN, L., HASTIE, T., WITTEN, D. AND B., ERSBOLL. (2011). Sparse discriminant analysis. *Technometrics* **53**(4), 406–413.
- EPIFANIO, I. (2008). Shape descriptors for classification of functional data. *Technometrics* **50**(3), 284–294.
- EPIFANIO, I. AND VENTURA-CAMPOS, N. (2011). Functional data analysis in shape analysis. *Computational Statistics & Data Analysis* **55**(9), 2758–2773.
- FERRATY, F. AND ROMAIN, Y. (2011). *The Oxford Handbook of functional data analysis*. Oxford University Press.
- FERRATY, F. AND VIEU, P. (2003). Curves discrimination: a nonparametric functional approach. *Computational Statistics and Data Analysis* **44**, 161–173.
- FERRATY, F. AND VIEU, P. (2006). *Nonparametric Functional Data Analysis: Theory and Practice*. Springer.

- FERRÉ, L. AND VILLA, N. (2006). Multilayer perceptron with functional inputs: an inverse regression approach. *Scandinavian Journal of Statistics* **33**(4), 807–823.
- GERARDIN, E., CHETELAT, G., CHUPIN, M., CUINGNET, R., DESGRANGES, B., KIM, H., NITHAMMER, M., DUBOIS, B., LEHERICY, S., GARNERO, L., EUSTACHE, F. *and others.* (2009). Multidimensional classification of hippocampal shape features discriminates Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment from normal aging. *NeuroImage* **47**(4), 1476–1486.
- GERIG, G., STYNER, M., JONES, D., WEINBERGER, D. AND LIEBERMAN, J. (2001). Shape analysis of brain ventricles using SPHARM. In: *Proceedings of the IEEE Workshop on Mathematical Methods in Biomedical Image Analysis (MMBIA’01)*. pp. 171–178.
- GOLLAND, P., GRIMSON, W. E. L., SHENTON, M. E. AND KIKINIS, R. (2001). Deformation analysis for shape based classification. In: *Proceedings of the 17th International Conference on Information Processing in Medical Imaging, IPMI ’01*. pp. 517–530.
- GRUNDMAN, M., PETERSEN, RC., FERRIS, SH., THOMAS, RG., AISEN, PS., BENNET, DA., FOSTER, NL., JACK, CR., GALASHO, DR., DONDY, R., KAYE, J. *and others.* (2004). Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Archives of Neurology* **61**, 59–66.
- GU, X., WANG, Y., CHAN, T. F., THOMPSON, P. M. AND YAU, S. (2004). Genus zero surface conformal mapping and its application to brain surface mapping. *IEEE Transactions on Medical Imaging* **23**(8), 949–958.
- HASBOUN, D., CHANTÔME, M., ZOUAOU, A., SAHEL, M., DELADOEUILLE, M., SOUROUR, N., DUyme, M., BAULAC, M., MARSAULT, C. AND DORMONT, D. (1996). MR determination of hippocampal volume: Comparison of three methods. *American Journal of Neuroradiology* **17**, 1091–1098.

- HASTIE, T., BUJA, A. AND TIBSHIRANI, R. (1995). Penalized discriminant analysis. *Annals of Statistics* **23**, 73–102.
- HASTIE, T., TIBSHIRANI, R. AND FRIEDMAN, J. (2009). *The Elements of Statistical Learning. Data mining, inference and prediction*, second edition. Springer-Verlag.
- HE, Y., LI, X., GU, X. AND QIN, H. (2005). Brain image analysis using spherical splines. In: *Proc. of Energy Minimization Methods in Computer Vision and Pattern Recognition*. pp. 633–644.
- HYVÄRINEN, A. (1999). Fast and robust fixed-point algorithms for independent component analysis, <http://www.cis.hut.fi/projects/ica/fastica/>. *IEEE Transactions on Neural Networks* **10**(3), 626–634.
- HYVÄRINEN, A., KARHUNEN, J. AND OJA, E. (2000). Independent component analysis: Algorithms and applications. *Neural Networks* **13**, 411–430.
- HYVÄRINEN, A., KARHUNEN, J. AND OJA, E. (2001). *Independent component analysis*. New York: Wiley.
- INÁCIO, V., GONZÁLEZ-MANTEIGA, W., FEBRERO-BANDE, M., GUDE, F., ALONZO, T. A. AND CADARSO-SUÁREZ, C. (2012). Extending induced ROC methodology to the functional context. *Biostatistics* **To appear**(doi: 10.1093/biostatistics/kxs007).
- JACK, C. R., PETERSEN, R. C., XU, Y. C., O'BRIEN, P. C., SMITH, G. E., IVNIK, R. J., BOEVE, B. F., WARING, S. C., TANGALOS, E. G. AND KOKMEN, E. (1999). Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology* **52**, 1397–1403.
- JOSHI, S. C., MILLER, M. I. AND GRENANDER, U. (1997). On the geometry and shape of brain sub-manifolds. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence* **11**(8), 1317–1343.

- KINDRATENKO, V. V. (2003). On using functions to describe the shape. *Journal of Mathematical Imaging and Vision* **18**, 225–245.
- KNEIP, A. AND RAMSAY, J. O. (2008). Combining registration and fitting for functional models. *Journal of the American Statistical Association* **103**(483), 1155–1165.
- L. SHEN, H. FARID AND MCPEEK, M.A. (2009). Modeling 3-dimensional morphological structures using spherical harmonics. *Evolution* **4**(63), 1003–1016.
- LI, B. AND YU, Q. (2008). Classification of functional data: A segmentation approach. *Computational Statistics and Data Analysis* **52**, 4790–4800.
- MACDONALD, D., KABANI, N., AVIS, D. AND EVANS, A. C. (2000). Automated 3-d extraction of inner and outer surfaces of cerebral cortex from mri. *NeuroImage* **12**(3), 340–356.
- MÜLLER, M. J., GREVERUS, D., WEIBRICH, C., DELLANI, P. R., SCHEURICH, A., STOETER, P. AND FELLGIEBEL, A. (2007). Diagnostic utility of hippocampal size and mean diffusivity in amnesic MCI. *Neurobiology of Aging* **28**(3), 398–403.
- MUNGAS, D., JAGUST, W. J., REED, B. R., KRAMER, J. H., WEINER, M. W., SCHUFF, N., NORMAN, D., MACK, W. J., WILLIS, L. AND CHUI, H. C. (2001). MRI predictors of cognition in subcortical ischemic vascular disease and Alzheimer’s disease. *Neurology* **57**, 2229–2235.
- NAIN, D., STYNER, M., NIETHAMMER, M., LEVITT, J. J., SHENTON, M., GERIG, G. AND TANENBAUM, A. (2007). Statistical shape analysis of brain structures using spherical wavelets. In: *Proceedings of the Fourth IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*. p. 209–212.
- PARK, Y., PRIEBE, C. E., MILLER, M. I., MOHAN, N. R. AND BOTTERON, K. N. (2008). Statistical analysis of twin populations using dissimilarity measurements in hip-

- pocampus shape space. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **2008**(Article ID 694297, doi:10.1155/2008/694297), 5 pages.
- PETERSEN, R. C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine* **256**, 183–194.
- RAMSAY, J. O. AND SILVERMAN, B. W. (2002). *Applied Functional Data Analysis*. Springer.
- RAMSAY, J. O. AND SILVERMAN, B. W. (2005). *Functional Data Analysis*, 2nd edition. Springer.
- RENCHER, A. C. (2002). *Methods of Multivariate Analysis*, 2nd edition. Wiley.
- RIPLEY, B. D. (1996). *Pattern recognition and neural networks*. Cambridge University Press.
- ROSSI, F. AND CONAN-GUEZ, B. (2005). Functional multi-layer perceptron: a nonlinear tool for functional data analysis. *Neural Networks* **18**(1), 45–60.
- ROSSI, F. AND VILLA, N. (2006). Support vector machine for functional data classification. *Neurocomputing* **69**(7–9), 730–742.
- SHEN, K., FRIPP, J., MERIAUDEAU, F., CHETELAT, G., SALVADO, O. AND BOURGEAT, P. (2012). Detecting global and local hippocampal shape changes in Alzheimer’s disease using statistical shape models. *NeuroImage* **59**(3), 2155–2166.
- SHEN, L., FORD, J., MAKEDON, F. AND SAYKIN, A. (2004). A surface-based approach for classification of 3D neuroanatomic structures. *Intelligent Data Analysis* **8**(6), 519–542.
- STOYAN, D. AND STOYAN, H. (1994). *Fractals, Random Shapes and Point Fields. Methods of Geometrical Statistics*. Wiley.
- STYNER, M., GERIG, G., JOSHI, S. C. AND PIZER, S. M. (2003). Automatic and robust computation of 3D medial models incorporating object variability. *International Journal of Computer Vision* **55**(2-3), 107–122.

- STYNER, M., LIEBERMAN, J. A., PANTAZIS, D. AND GERIG, G. (2004). Boundary and medial shape analysis of the hippocampus in schizophrenia. *Medical Image Analysis Journal* **8**(3), 197–203.
- TAYLOR, J.E. AND WORSLEY, K.J. (2008). Random fields of multivariate test statistics, with applications to shape analysis. *Annals of Statistics* **36**(1), 1–27.
- TIMSARI, B. AND LEAHY, R. M. (2000). Optimization method for creating semi-isometric flat maps of the cerebral cortex. In: *Proc. SPIE, Medical Imaging*, Volume 3979. pp. 698–708.
- WATSON, C., ANDERMANN, F., GLOOR, P., JONES-GOTMAN, M., PETER, T., A., EVANS, OLIVIER, A., MELANSON, D. AND G., LEROUX. (1992). Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* **42**(9), 1743–1750.
- YU, P., GRANT, P. E., QI, Y., HAN, X., SÉGONNE, F., PIENAAR, R., BUSA, E., PACHECO, J., MAKRIS, N., BUCKNER, R. L., GOLLAND, P. *and others.* (2007). Cortical surface shape analysis based on spherical wavelets. *IEEE Transactions on Medical Imaging* **26**(4), 582 – 597.

## 5. FIGURES AND TABLES

Table 1. *Description of the database. The number inside the parentheses is the standard deviation.*

	CN, $N_1 = 12$	MCI, $N_2 = 6$	AD, $N_3 = 10$
Sex (Male/Female)	5/7	2/4	1/9
Age	70.17 (3.43)	75.50 (3.33)	71.5 (4.35)
CDR (Clinical Dementia Rating)	0 (0)	0.5 (0)	0.95 (0.15)

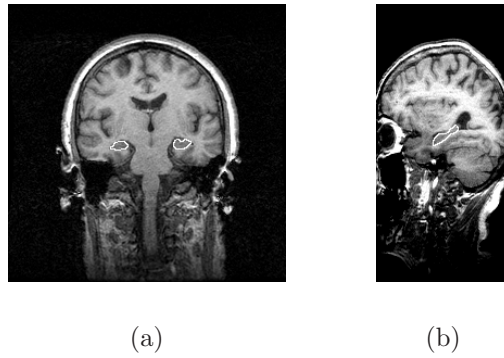


Fig. 1. Hippocampal outlines in a coronal (a) and sagittal (b) slice.



Fig. 2. The effect of the first PC (first row), the second PC (second row) and the third PC (third row) on the mean shape: from -2 (left) to 2 (right) in intervals of 1 standard deviations for each component.

Table 2. Performance for the CN vs MCI for the different methods, selecting with double leave-one-out the features and using these features with leave-one-out for obtaining the accuracy.

Method	Volume	FPCA	FICA	SVM (Gerardin <i>and others</i> , 2009)	SDA
Accuracy (%)	83.33	88.89	88.89	77.78	72.22
No. features	1	5	6	12	11
Sensitivity (%)	66.67	66.67	66.67	50	33.33
Specificity (%)	91.67	100	100	91.67	91.67



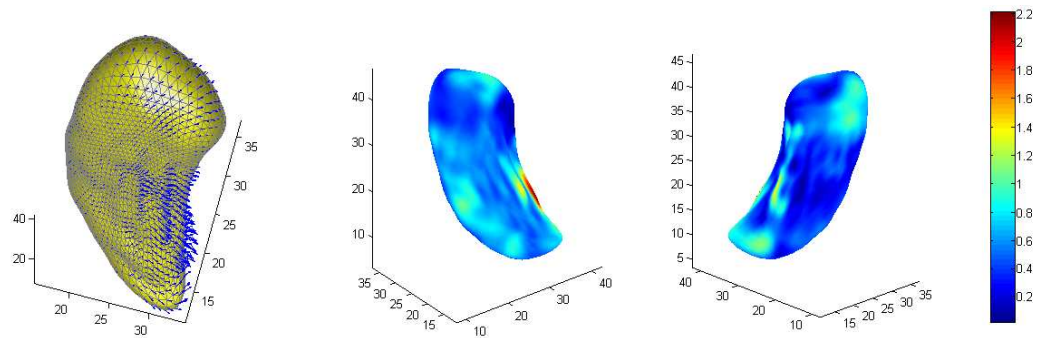


Fig. 3. Functional linear discriminant with FICA for CN vs MCI (from left to right): vector map with the magnitude and directionality, and magnitude for two views.

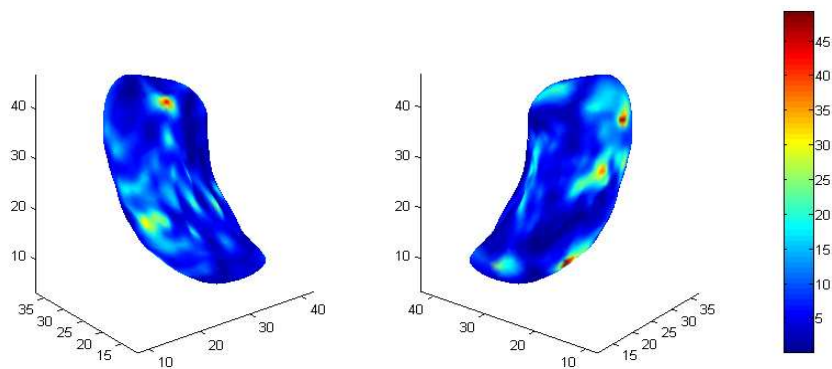


Fig. 4. Two views of the F-statistic map of shape difference between CN and MCI (the random field based thresholding corresponding to  $\alpha=0.05$  level is 69.11, for  $\alpha=0.1$  level is 59.17, while the maximum F-statistic value is 49.02). F-statistic does not achieve to make clear the differences as the Figure 3.

# Supplementary material to “Hippocampal shape analysis in Alzheimer’s disease using Functional Data Analysis”

IRENE EPIFANIO\*

*Dept. Matemàtiques, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain*

epifanio@uji.es

NOELIA VENTURA-CAMPOS

*Dept. Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, 12071 Castelló, Spain*

## 1. INTRODUCTION

This Supplementary Material contains the analysis of the AD patients versus CN and versus MCI and the analysis for the three groups: CN, MCI and patients with early AD.

## 2. RESULTS

Figure 1 shows the magnitude of the first three principal component over the mean hippocampus for the whole database. The viewpoints have been selected in order to visually appreciate better the effect. As code and data are available at <http://www3.uji.es/epifanio/RESEARCH/alzfdarar>, figures can be reproduced and the view can be interactively rotated. Head, body and tail are the three parts that make up a hippocampus (Hasboun *and others*, 1996). A schematic representation of the hippocampal subfields is shown in Figure 2, which can help in the interpretation.

\*To whom correspondence should be addressed.

Figures 3, 4 and 5 display two views of the functional linear discriminant with FICA using all the subjects in each subset for the number of components selected by nested LOU. Considering all these figures jointly, together with Figure 3 in the paper, the evolution of the disease (where it begins and where it ends) can be seen perfectly. As said in the paper, it suggests a small loss in the CA1 and a part of the subiculum in the body of the hippocampus for CN vs MCI. In MCI vs AD, there is a larger difference in CA1, with a bigger value in the tail. Hence, the loss would begin from the head to the tail. Furthermore, there are many differences along the whole subiculum, no so localized as in the CN vs MCI case. In summary, it is clear that the disease would begin in the CA1 region from the head to the tail, with a progressive loss in the subiculum, although this loss is not so pronounced as in CA1.

Tables 1 and 2 give the performance for the respective subproblem. Table 3 shows the confusion matrices for each method when the three groups are considered jointly, except for SVM in Gerardin *and others* (2009), whose methodology is only for problems with two groups. Best or equal accuracies are achieved with the functional approach. Note that 100% correct classifications for CN vs AD are obtained by all methods except for SDA, but SVM uses 20 features, when the total number of subjects in that subproblem is 22.

It could be interesting to plot the scores of each subject on different components because these scatter plots can reveal interesting features, such as the distribution of the subjects on those components, clusters of subjects, outliers, etc. (Jolliffe, 2002). Note that the complex information in the hippocampi, which are structures in 3D, will be represented with simple scatter plots. For the MCI vs AD subproblem, which is the most difficult subproblem according to the obtained accuracies, we have computed the scores (the features used with LDA) using all the subjects in that subset (16) for the number of components selected ( $J = 3$  for FPCA and  $J = 4$  for FICA in this subproblem). In Figure 6 those scores for FPCA and FICA for the two components that visually best reflect the separation between groups are represented. The scatter plot for FICA

shows a slight greater separation than that for FPCA, with two patients with different conditions nearly overlapped.

Instead of the scores used in the classification, in Figure 7 we show the discriminant values for the two discriminant functions for the three groups jointly, using all the subjects in that set (28) for the number of components selected ( $J = 8$  for FPCA and  $J = 9$  for FICA in this problem). Crosses, stars and circles represent the CN, MCI, and patients with early AD, respectively. The plots for FPCA and FICA are nearly identical. One of the MCI patient (the same in both plots) is near the AD group.

## REFERENCES

- GERARDIN, E., CHETELAT, G., CHUPIN, M., CUINGNET, R., DESGRANGES, B., KIM, H., NITHAMMER, M., DUBOIS, B., LEHERICY, S., GARNERO, L., EUSTACHE, F. *and others.* (2009). Multidimensional classification of hippocampal shape features discriminates Alzheimer's disease and mild cognitive impairment from normal aging. *NeuroImage* **47**(4), 1476–1486.
- HASBOUN, D., CHANTÔME, M., ZOUAOU, A., SAHEL, M., DELADOEUILLE, M., SOUROUR, N., DUyme, M., BAULAC, M., MARSAULT, C. AND DORMONT, D. (1996). MR determination of hippocampal volume: Comparison of three methods. *American Journal of Neuroradiology* **17**, 1091–1098.
- JOLLIFFE, I. T. (2002). *Principal Component Analysis*, second edition. Springer.

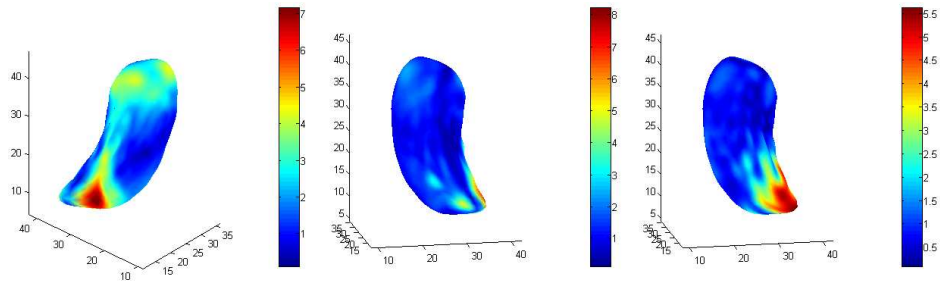


Fig. 1. The effect of the first PC, the second PC and the third PC (from left to right) on the mean shape for 2 standard deviations of each component.

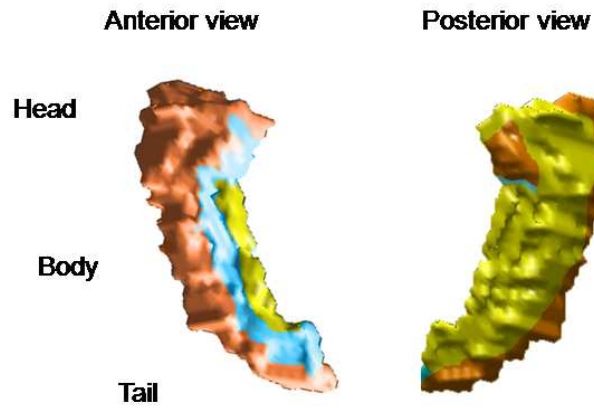


Fig. 2. Zones on the left hippocampal surface. CA1 is in red, subiculum in yellow, and CA2, CA3, CA4 and gyrus dentatus in blue.

Table 1. Performance for the MCI vs AD patients for the different methods, selecting with double leave-one-out the features and using these features with leave-one-out for obtaining the accuracy.

Method	Volume	FPCA	FICA	SVM (Gerardin <i>and others</i> , 2009)	SDA
Accuracy (%)	75.00	87.50	87.50	68.75	62.5
No. features	1	3	4	8	6
Sensitivity (%)	80.00	100	100	90.00	80.00
Specificity (%)	66.67	66.67	66.67	33.33	33.33

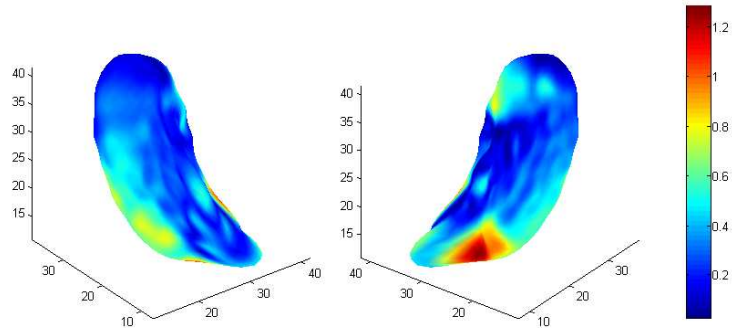


Fig. 3. Functional linear discriminant with FICA for MCI vs AD ( $J = 4$  components). The discriminant function significantly separates the groups (Wilks'  $\Lambda = 0.320$ ,  $p$ -value = 0.008).

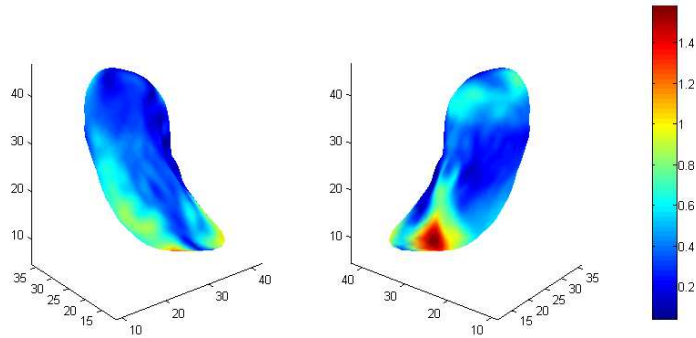


Fig. 4. Functional linear discriminant with FICA for CN vs AD ( $J = 2$  components). The discriminant function significantly separates the groups (Wilks'  $\Lambda = 0.103$ ,  $p$ -value = 0).

Table 2. Performance for the CN vs AD for the different methods, selecting with double leave-one-out the features and using these features with leave-one-out for obtaining the accuracy.

Method	Volume	FPCA	FICA	SVM (Gerardin <i>and others</i> , 2009)	SDA
Accuracy (%)	100	100	100	100	90.91
No. features	1	1	2	20	6
Sensitivity (%)	100	100	100	100	90.00
Specificity (%)	100	100	100	100	91.67

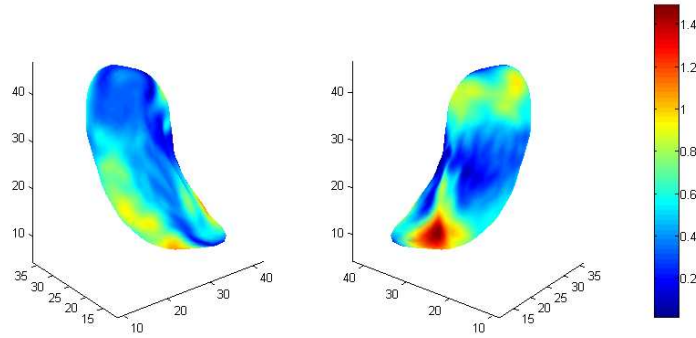


Fig. 5. First functional linear discriminant with FICA for CN, MCI and AD ( $J = 9$  components). The two discriminant functions significantly separate the groups at  $\alpha = 0.05$ , but only the first one, whose proportion of trace is 89.29%, is displayed (first: Wilks'  $\Lambda = 0.046$ , p-value = 0; second: Wilks'  $\Lambda = 0.474$ , p-value = 0.048).

Table 3. Confusion matrices (in absolute counts) for the CN, MCI and AD for the different methods (Volume/ FPCA / FICA / SDA), selecting with double leave-one-out the features and using these features with leave-one-out for obtaining the entries. The accuracies for each method are (in parentheses the No. features): Volume 75.00% (1), FPCA 85.71% (8), FICA 85.71% (9), SDA 85.71% (13).

	CN	MCI	AD
CN	11 / 12 / 12 / 12	1 / 0 / 0 / 0	0 / 0 / 0 / 0
MCI	2 / 2 / 2 / 2	1 / 3 / 3 / 2	3 / 1 / 1 / 2
AD	0 / 0 / 0 / 0	1 / 1 / 1 / 0	9 / 9 / 9 / 10

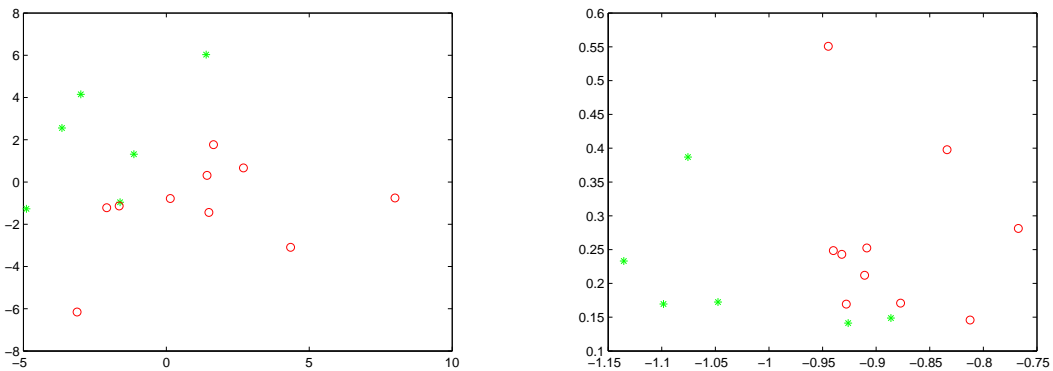


Fig. 6. Scatter plot of scores for MCI vs AD. Component 1 vs 3 for FPCA (left) and component 2 vs 4 for FICA (right).

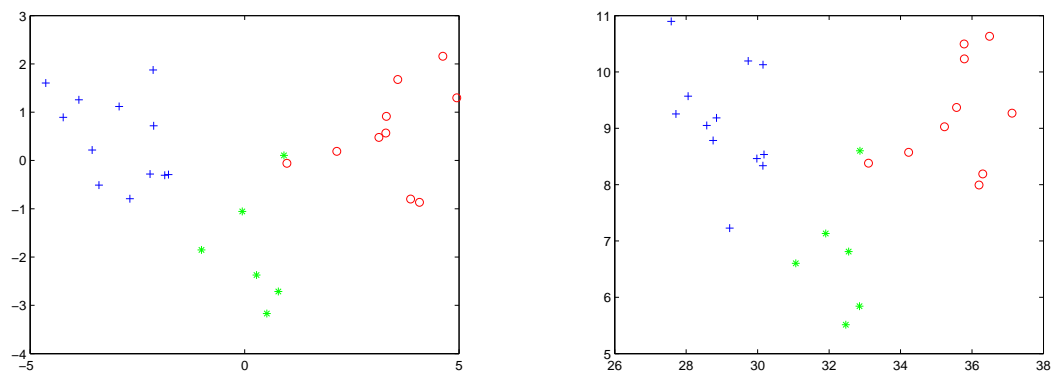


Fig. 7. Scatter plot of discriminant values for the two discriminant functions of the three groups: FPCA (left) and FICA (right).



## Parte III

### Estudio 3:

Spontaneous brain activity predicts  
learning ability of foreign sounds.  
Ventura-Campos N., Ávila C. y Cols.  
*Journal of Neuroscience* [3]



## Spontaneous brain activity predicts learning ability of foreign sounds

Noelia Ventura-Campos<sup>1</sup>, Ana Sanjuán<sup>1</sup>, Julio González<sup>1</sup>, M<sup>a</sup> Ángeles Palomar-García<sup>1</sup>,  
Aina Rodríguez-Pujadas<sup>1</sup>, Núria Sebastián-Gallés<sup>2</sup>, Gustavo Deco<sup>3,4</sup>, and César Ávila<sup>1</sup>.

*Author affiliation:*

<sup>1</sup> *Departament de Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, Avda. Sos Baynat, s/n, 12071, Castellón de la Plana, Spain.*

<sup>2</sup> *Center for Brain and Cognition, Department of Technologies, Universitat Pompeu Fabra, C/Tànger 122-140, 08018, Barcelona, Spain*

<sup>3</sup> *Theoretical and Computational Neuroscience Group, Center for Brain and Cognition, Universitat Pompeu Fabra, Roc Boronat, 138, 08018 Barcelona, Spain*

<sup>4</sup> *Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona, Spain*

*Corresponding author:* Noelia Ventura-Campos  
Departamento de Psicología Básica, Clínica i Psicobiología,  
Universitat Jaume I  
Edificio de Investigación II, Avda. Sos Baynat, s/n  
C.P. 12071, Castelló de la Plana (Spain)  
Email: venturan@uji.es  
Telephone number: +34 964387658

*Number of pages:* 28

*Number of figures:* 8

*Number of words for Abstract:* 194

*Introduction:* 455

*Discussion:* 1312

### Acknowledgments

This research was supported in part by grants from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (PSI2010-20168, PSI2012-34071, and CONSOLIDER-INGENIO 2010 Programme CDS-2007-00012), and grants from the Generalitat Valenciana (grant number APOSTD/2012068) and from the Universitat Jaume I (grant number P1-1B2012-38).

The authors declare no competing financial interests.

### **Abstract**

Can learning capacity of the human brain be predicted from initial spontaneous functional connectivity (FC) between brain areas involved in a task? We combined task-related fMRI and resting-state fMRI (rs-fMRI) before and after training with a Hindi dental-retroflex non-native contrast. Previous fMRI results were replicated demonstrating that this learning recruited the left insula/frontal operculum and the left superior parietal lobe, among other areas of the brain. Crucially, resting-state FC (rs-FC) between these two areas at pre-training predicted individual differences in learning outcomes after distributed (Experiment 1) and intensive training (Experiment 2). Furthermore, this rs-FC was reduced at post-training, a change that may also account for learning. Finally, resting-state network analyses showed that the mechanism underlying this reduction of rs-FC was mainly a transfer in intrinsic activity of the left frontal operculum/anterior insula from the left fronto-parietal network to the salience network. Thus, rs-FC may contribute to predict learning ability and to understand how learning modifies the functioning of the brain. The discovery of this correspondence between initial spontaneous brain activity in task-related areas and post-training performance opens new avenues to find predictors of learning capacities in the brain using task-related fMRI and rs-fMRI combined.

## Introduction

People vary in their ability to learn new skills. Dating back to phrenology, neuroscientists have attempted to understand where these different learning capacities originate by exploring the brain. The effect of learning on the brain has been indexed through diverse techniques such as functional magnetic resonance imaging (fMRI) and morphometry (Lewis et al., 2009, Takeuchi et al., 2011). More recently, resting-state fMRI (rs-fMRI) has become another possible candidate to predict learning capacities (Baldassarre et al., 2012). Rs-fMRI gives an intrinsic and coherent signal within a number of replicable networks with topography closely resembling that of functional networks recruited during tasks (Smith et al., 2009). Importantly, recent studies have demonstrated that rs-FC changes during rs-fMRI occur in parallel with fMRI learning-related changes (Lewis et al., 2009) and that pre-training resting-state functional connectivity (rs-FC) between visual areas of the brain predicts long-term visuomotor learning (Baldassarre et al., 2012). These contributions lay the groundwork for the possibility of using rs-fMRI guided by task-related fMRI as an index of the brain's ability to learn. The aforementioned study (Baldassarre et al., 2012), however, did not directly test this possibility due to differences in baseline performance and because the brain areas that change in rs-FC due to learning were not the same as those that predict performance at pre-training.

Our objective is to extend those results and test a more generalizable method for studying the brain's capacity to learn by determining functional connectivity (FC) during rs-fMRI between task-related brain areas. To this aim, we focused on the ability to distinguish a difficult non-native phonetic contrast, a task at which adults typically demonstrate at-chance baseline performance but may considerably improve on with phonetic training (Golestani and Zatorre, 2009). Phonetic learning has been consistently linked to activity of the left frontal operculum/anterior insula (LFO/aI) in association with different temporal and parietal areas (Deng et al., 2008, Golestani and Zatorre, 2004), and with increased gray and white matter in the left inferior and superior parietal gyri (Golestani et al., 2002, Golestani and Zatorre, 2004). In Experiment 1, we examined the effect of distributed phonetic learning on the brain based on

changes in the blood oxygen level-dependent (BOLD) signal recorded both during the task and at rest. Participants were scanned using resting-state and task-related fMRI before and after 2 weeks of phonetic training to discriminate new phonemes. Task-related fMRI was used to identify brain areas involved in phonetic discrimination, whereas rs-fMRI was employed to calculate rs-FC between these task-related areas at pre-training and post-training. Experiment 2 was designed to confirm the most relevant result of Experiment 1 (the significant correlation between pre-training rs-fMRI and learning) in a larger sample and using a single day of intensive training for a mean of 75 minutes.

## **Materials and Methods**

### **I. Experiment 1**

#### **Participants.**

Twenty-two right-handed participants were initially recruited for this study. Three participants were excluded from analyses because they did not respond to over 51% of the non-native phonetic contrast trials in post-training (following the logic of Golestani and Zatorre (2004)). The final sample consisted of nineteen participants ( $M$  age = 23.74 years,  $SD$  = 2.54, 9 males) with normal auditory acuity. None of the participants had previous experience with languages employing retroflex phonemes. All participants gave informed consent prior to participation and received monetary compensation for their time and effort. This research was approved by the Universitat Jaume I Ethics Committee.

#### **Task and training data**

##### ***Experimental overview.***

The procedure was similar to that implemented by Golestani and Zatorre (2004). Imaging data consisted of an rs-fMRI followed by a phoneme identification fMRI task carried out before and after 2 weeks of behavioral phonetic training with the non-native phoneme contrast (see Figure 1).

### ***Stimuli.***

We selected the dental-retroflex place-of-articulation contrast, which is used in languages of India such as Hindi and Urdu. Retroflex consonants require a relatively complex articulation. They are rare across the languages of the world and crucially, they are not used phonemically in Spanish. Perceptually, Spanish listeners assimilate the dental-retroflex sounds such that they perceive both sounds as instances of the dental consonant /d/. Previous research has shown that this contrast is difficult to perceive for listeners of languages without the dental-retroflex contrast (such as French and English) (Golestani and Zatorre, 2004, Polka, 1991, Werker and Lalonde, 1988).

Our non-native phonetic stimuli were the same as those employed by Golestani and Zatorre (Golestani and Zatorre, 2004, 2009). There were seven stimuli varying in equal steps in terms of acoustic difference between adjacent items: Stimulus 1 corresponded to the dental /da/ and stimulus 7 to the retroflex voiced /da/, a prototype of the unaspirated stop consonant. The stimuli can be listened to at the following website: <http://www.zlab.mcgill.ca/supplements/language-anatomy.html>.

### ***Stimuli for the phoneme identification fMRI task.***

Apart from the two endpoint sounds (i.e., stimulus 1 and stimulus 7) corresponding to the non-native contrast, two control stimuli were used in the fMRI task. The first was a native contrast that constituted two stop dental sounds: a voiced /da/ sound similar to stimulus 1 (above) and a voiceless /ta/ sound. As this contrast is used in the Spanish language, it is easy for native Spanish listeners to distinguish. Both sounds were synthesized (Klatt, 1980) using parameters based on Golestani and Zatorre's study (Golestani and Zatorre, 2004, 2009). The second control stimulus was a burst of white noise matched in sound pressure level and duration with the consonant-vowel stimuli. It was digitized at a sampling rate of 22.050 Hz using a 16-bit A/D converter and low-pass filtered at 11.025 Hz.

### ***Testing and behavioral training.***

The testing and the behavioral training task were implemented using Inquisit by Millisecond Software (<http://www.millisecond.com>).

#### *Behavioral training.*

Participants underwent six 1-hour behavioral training sessions spread out over the course of 2 weeks. During the sessions, participants were instructed to identify the non-native phoneme contrast: dental versus retroflex sounds. Training involved 20-trial blocks of the identification task, after each trial participants received feedback on the accuracy of their response. We implemented the fading technique during training: Participants began by identifying the pair of endpoint tokens of a synthetic continuum; then, depending on performance, the acoustic differences between the sounds were progressively reduced until the phonetic differences were near the categorical boundary. Training was discontinued once a participant achieved criterion on this last contrast (at least 80% correct responses) or had completed a maximum of 200 trials (10 blocks) (Golestani and Zatorre, 2009). The fading technique is aimed at helping the listener attend to the relevant phonetic/acoustic properties of category distinctions, beginning by presenting the most easily perceived phonetic/acoustic differences and ending with phonetic/acoustic differences near the categorical boundary. Within each session, participants completed this training twice, separated by 10 minutes of rest, spending an average of 60 minutes per day (range = 50-70 minutes).

#### *The pre- and post-training identification test.*

Before and after training, participants performed a behavioral identification task without feedback on their performance. They heard 20 randomly presented instances of each of the two endpoint stimuli and were required to press the button corresponding to the type of voicing, dental or retroflex. The overall percentage of correct responses was used as a behavioral measure of non-native identification outside the scanner.



### ***Procedure for the phoneme identification fMRI task.***

All participants performed the phoneme identification task with protocol similar to that of previous studies (Golestani and Zatorre, 2004): Participants were familiarized with the stimuli and underwent a short practice task before entering the scanner. The task was programmed in presentation software (Neurobehavioral Systems, Inc., Albany, CA) and the stimuli were presented through headphones compatible with MRI (VisuaStim, Resonance Technology, Inc., Northridge, CA). We used a sparse-sampling design to mitigate the interference of scanner noise by inserting a 2-second delay between image acquisitions (Staeren et al., 2009). Stimuli were presented during the silent periods of each 3.6-second TRs period with different onsets (1.9, 2.1, and 2.3 s). The three different conditions (native, non-native, and noise burst) were presented in a block design (6 stimuli, block duration = 21.6 s). Each block was followed by silent periods of 3.6 or 7.2 s. The order of the conditions was counterbalanced.

Responses were collected during fMRI scanning for all conditions. Participants were instructed to stay attentive, listen to each sound, and push one of the two buttons of the ResponseGrip (Nordic NeuroLab, Bergen, Norway) with their right hand: one button if they heard a native or non-native dental sound /da/, and the other button if they heard a native dental sound /ta/ or non-native retroflex sound /da/. For the noise burst condition, participants were asked to randomly press either of the two response buttons. Data from one participant were lost due to technical problems during the task. The overall percentage of correct responses in native and non-native blocks was used as a behavioral measure of performance inside the scanner.

### **Data Analyses**

#### ***Image data acquisition.***

The same fMRI protocol was used before and after training. fMRI sessions consisted of a resting-state in which participants were instructed to simply rest with their eyes closed and not to sleep or think about anything in particular. This was followed by the phoneme identification fMRI task in which participants remained with their eyes closed. Images were acquired on a 1.5 T scanner (Siemens Symphony, Erlangen, Germany). Participants were placed in a supine

position in the MRI scanner and their heads were immobilized with cushions to reduce motion artifacts. For the resting-state fMRI (rs-fMRI), a total of 270 volumes were recorded over 9 minutes using a gradient-echo T2\*-weighted echo-planar imaging sequence (TR/TE = 2000/48 ms, matrix = 64 x 64, voxel size = 3.5 x 3.5 mm, flip angle = 90°, slice thickness = 4 mm, slice gap = 0.8 mm). We acquired 24 interleaved axial slices parallel to the anterior-posterior commissure plane covering the entire brain. For the fMRI task, a total of 293 volumes were sparsely acquired over 17:58 minutes using a gradient-echo T2\*-weighted echo-planar imaging sequence (TR = 3600 ms, TA = 1600 ms, TE = 46 ms, matrix = 64 x 64, voxel size = 3.5 x 3.5 mm, flip angle = 90°, slice thickness = 4 mm, slice gap = 0.4 mm). We acquired 19 interleaved axial slices in the orientation of the Sylvian fissure. Prior to the functional magnetic resonance sequences, a high-resolution structural T1-weighted MPRAGE sequence was acquired (TR/TE = 2200/3.8 ms, matrix = 256 x 256 x 160, voxel size = 1 x 1 x 1 mm).

### **FMRI task**

#### ***Phoneme identification fMRI task analysis.***

Image preprocessing using SPM8 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK) consisted of head motion correction, spatial normalization (3 mm<sup>3</sup>), and spatial smoothing by convolution with an isotropic Gaussian kernel of 8 mm full width at half maximum (FWHM). In the first-level analyses, a general linear model was performed for each participant and for each time period (before and after training), modeling the conditions of interest corresponding to native, non-native, noise, and silence using a box-car function. The parameters of movement correction were used as covariates of no interest. Temporal autocorrelation was not applied to the sparse-sampling model in the first-level single-subject analysis. In order to assess the effects of native and non-native conditions, we carried out two comparisons of interest to produce a “contrast image” for each participant: native versus noise (native contrast) and non-native versus noise (non-native contrast). In a random-level analysis, we employed a one-sample *t*-test for each contrast image to obtain population inferences for each condition, native and non-native, in each period. To estimate the changes between pre-

training and post-training, we used a paired *t*-test design. We also performed a multiple regression analysis on the learning measure (post- minus pre-training identification scores) and the BOLD signal during identification of the non-native contrast in post-training. All results were thresholded at  $p < 0.05$ , family-wise error (FWE) corrected for multiple comparisons at the cluster level determined by whole-brain Monte Carlo simulations using the AlphaSim program in the REST software (<http://www.restfmri.net>; voxel-wise threshold of  $p < 0.005$  and cluster-size criterion of 42 voxels).

***Post-hoc definition of ROIs used as seed regions in the rs-fMRI analysis.***

Following a similar approach to that of previous reports (Lewis et al., 2009), the seed regions selected for the rs-fMRI analysis were extracted from the phoneme identification fMRI task by comparing the trained (i.e., non-native contrast) and untrained (i.e., native contrast) conditions. Both conditions were similar in task instructions and behavioral results. We defined two different contrasts: 1) To identify the functional regions specifically associated with the effects of training on Hindi phonemic identification, we computed the contrast Post-Training Non-Native > Pre-Training Native using an inclusive mask of the post-training non-native contrast ( $p < 0.05$ , uncorrected at the voxel level). This inclusive mask restricted analysis only to voxels found in areas linked to the non-native condition after training. 2) To identify the functional regions specifically associated with the effects of processing the native contrast, we computed the contrast Pre-Training Native > Post-Training Non-Native using an inclusive mask of the pre-training native contrast ( $p < 0.05$ , uncorrected at the voxel level). This inclusive mask restricted the analysis to voxels found in areas linked to the native condition before training that did not participate in non-native processing. These results were thresholded at  $p < 0.05$ , FWE corrected for multiple comparisons at the cluster level determined by whole-brain Monte Carlo simulations. Choosing seed regions may bias connectivity findings toward specific, smaller, or overlapping subsystems rather than larger, distinct networks (Buckner et al., 2008). Therefore, the location of each seed region must be a "good" representative of the set of correlated voxels at rest, and it is important to consider both seed size and location (Beckmann et al., 2005, Cole

et al., 2010). For this reason, we applied a more restrictive voxel-wise threshold of  $p < 0.001$  using a cluster-size criterion of 21 to obtain the location of peak z-scores that were more highly significant. Then, the seed regions were functionally defined as 8-mm-radius spheres centered on peaks of local maxima obtained by previous contrasts of the task-related fMRI; peaks within 8 mm of each other were consolidated into a single seed (Lewis et al., 2009).

## **Rs-FC analyses**

### ***Preprocessing***

Rs-fMRI datasets were processed using a toolkit of the Data Processing Assistant for Resting-State fMRI (DPARSF, <http://www.restfmri.net>) (Chao-Gan and Yu-Feng, 2010). The rs-fMRI preprocessing included the slice-timing correction for interleaved acquisitions using sinc-interpolation and resampling with the middle slice (23rd) in time as the reference point. Head motion correction and spatial normalization with resampling to 3 mm<sup>3</sup> voxels were conducted as in the phoneme identification fMRI task analysis (see above). Spatial smoothing was performed with an isotropic Gaussian kernel of 4 mm FWHM.

### ***Additional preprocessing for seed-based rs-FC analysis.***

We conducted additional preprocessing through the following steps: (i) removing the linear trend in the time series, (ii) temporally band-pass filtering (0.01-0.08 Hz) to reduce the effect of low-frequency drift and high-frequency noise (Biswal et al., 1995, Lowe et al., 1998) and (iii) controlling the non-neural noise in the seed region time series (Fox et al., 2005). Several sources of spurious variance were removed from the data through linear regression: six parameters from rigid body correction of head motion, the global mean signal, the white matter signal, and the cerebrospinal fluid signal.

### ***Seed-based rs-FC analyses.***

After the preprocessing of rs-fMRI data, we used the predefined seed regions for ROI-wise rs-FC analyses using the DPARSF toolbox. The mean time course of all voxels in each seed region was used to calculate pairwise linear correlations (Pearson's correlation) during

each rs-fMRI period. Individuals'  $r$ -values were normalized to  $z$ -values using Fisher's  $Z$  transformation. To examine the changes in rs-FC before and after training, we performed a paired  $t$ -test on the  $z$ -value for each rs-fMRI period using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 19.0 (Chicago, IL, USA). The multiple comparison of pairwise correlation analysis threshold was set to  $p < 0.05$ , applying a Bonferroni correction. Based on this method, we divided the a priori selected threshold of  $p < 0.05$  by the number of tests performed ( $k = 6$ ; see Results), which stabilized statistical levels as significant if less than 0.0083. We also performed Spearman's correlation analysis between the values of the identification test and 1) the rs-FC of each seed region in pre-training, 2) the rs-FC of each seed region in post-training, and 3) the changes in rs-FC (post-training minus pre-training).

#### ***Intrinsic rs-FC network analyses.***

Spontaneous activity measured with rs-fMRI is organized in a limited number of brain networks and this finding has been replicable across studies (Damoiseaux et al., 2006, Shehzad et al., 2009). Three steps were completed to identify the resting-state networks (RSNs) evoked by the seed regions (Seeley et al., 2007). We carried out an additional fourth step to investigate how phonetic learning modified the intrinsic rs-FC of these brain networks:

1. *ICA data.* We performed an independent component analyses (ICA) using the Group ICA of fMRI Toolbox (GIFT; <http://icatb.sourceforge.net/groupica.htm>; (Calhoun et al., 2001) for each rs-fMRI period to obtain the known RSNs with a convergent method in a large dataset (Beckmann et al., 2005, Damoiseaux et al., 2006). Previous studies have demonstrated that a high model order ICA produces a refined independent component (IC) associated with known anatomical and functional segmentation (Abou-Elseoud et al., 2010, Allen et al., 2011, Kiviniemi et al., 2009, Smith et al., 2009, Ystad et al., 2010); therefore, 40 ICs were selected for each rs-fMRI time period to obtain the most networks. At this point, we conducted group-level spatial ICA using the Infomax ICA algorithm (Bell and Sejnowski, 1995). Twenty iterations of ICA were performed using ICASSO (<http://www.cis.hut.fi/projects/ica/icasso>) to determine the reliability or stability of the ICA algorithm (Himberg et al., 2004) and the best estimate

(centrotype of the cluster) for each IC was used. The individual IC maps and time courses were computed using back-reconstruction based on aggregate components of the ICA and the results from the data reduction step (Calhoun et al., 2001, Calhoun et al., 2002, Erhardt et al., 2011). The RSNs were classified by visually inspecting the aggregate spatial maps (discarding the ICs associated with physiological artifacts) and average power spectra ( $< 0.10$  Hz). (Lowe et al., 1998).

2. *Seed-based FC-map.* We used the DPARSF toolbox to compute voxel-wise rs-FC maps to disentangle the networks evoked by seed regions. This method allowed us to study the rs-FC (Pearson's correlation) of the seed region with all other voxels in the whole brain for each participant during each rs-fMRI period. Individual r-maps were normalized to z-maps using Fisher's Z transformation. For each seed region, a one-sample *t*-test using SPM8 was performed by entering the z-maps to detect brain areas showing significant rs-FC across participants and obtain FC-maps in pre-training and post-training ( $p < 0.05$ , FWE corrected for multiple comparisons at the cluster level determined by whole-brain Monte Carlo simulation with voxel-wise threshold of  $p < 0.005$  and a cluster-size criterion of 12 voxels).

3. *Selection of RSNs associated with each seed.* To select the RSN obtained by the ICA that best fit the FC-map of each seed region, we used the spatial correlation sorting option in GIFT to examine the spatial correlation among all the ICs obtained in step 1 and the FC-maps obtained in step 2 independently for pre- and post-training rs-fMRI. Then, we selected the ICs that demonstrated the highest correlations with each FC-map and confirmed this through visual evaluation (Correa et al., 2007). This approach allowed us to determine the IC for each participant that showed greater spatial correlation with each FC-map, and this IC was selected as the RSN associated with the seed corresponding to the FC-map.

4. *Intrinsic rs-FC of seeds within RSNs.* In the last step, the ICs corresponding to the RSNs associated with each seed were extracted for all participants. Then, a random effects statistical analysis was performed for each RSN before and after training using a one-sample *t*-test (threshold z-score  $> 3$ ) to obtain the population inferences for each RSN. To calculate the

intrinsic rs-FC of each seed within its RSN, we extracted for each participant the first eigenvariate of the rs-fMRI signal intensities of all voxels belonging to the seed ("VOI") using SPM8. In SPM8, the first eigenvariate is the estimated weighted mean of the VOI, which corresponds to the time courses of all voxels belonging to the seed in our case (Friston et al., 2006). Also, a paired *t*-test was computed using SPSS to evaluate the difference in mean intrinsic rs-FC of each seed within each RSN before and after training. The multiple comparison threshold was set to  $p < 0.05$  and a Bonferroni correction was applied. Based on this method, we divided the a priori selected threshold of  $p < 0.05$  by the number of tests performed ( $k = 3$ ; see Results), which stabilized statistical levels as significant if less than 0.016. Finally, we performed a correlation analysis between the changes in intrinsic rs-FC within the RSN (only those for which the paired *t*-test was significant) and the post-training rs-FC obtained by ROI-wise analysis (see Seed-Based Rs-FC Analyses). This correlation analysis was performed to investigate if the changes in rs-FC between seed regions due to training were related to the intrinsic rs-FC within the brain networks.

## **II. Experiment 2**

### **Participants.**

Twenty-eight new participants were recruited for this study ( $M$  age = 22.18 years,  $SD = 3.62$ , 12 males). Inclusion and exclusion criteria were the same as in Experiment 1. No participant was discarded in this experiment.

### **Testing and behavioral training.**

Outside the scanner, participants were tested three times and trained intensively for 60-80 minutes in a single day. We only employed the two endpoint stimuli corresponding to the dental and retroflex sounds. The behavioral task was divided into three identical blocks that consisted of 200 trials of behavioral identification training with feedback followed by 100 trials of an identification test without feedback (Test 1, Test 2 and Test 3); these blocks were

separated by 10-minute rest periods. Performance was measured using the mean percentage of correct responses during each identification test.

### **Imaging data acquisition.**

The fMRI session consisted of a single resting state acquired before training on a 1.5 T scanner (Siemens Avanto, Erlangen, Germany). A total of 270 volumes were recorded over 9 minutes using a gradient-echo T2\*-weighted echo-planar imaging sequence (TR/TE = 2000/30 ms, matrix = 64 x 64 x 30, voxel size = 3.5 x 3.5 x 4.02 mm, flip angle = 90°). Prior to the functional sequences, a T1-weighted sequence was acquired (TR = 11 ms, TE = 4.9 ms, FOV = 24 cm, matrix = 256 x 224 x 176, voxel size = 1 x 1 x 1 mm).

### **Seed-based rs-FC analysis**

The preprocessing and the seed-based rs-FC analyses were as in Experiment 1. For the rs-FC analysis, we selected the same seed regions related to learning as in Experiment (for details, see Experiment 1). To replicate the results obtained in Experiment 1 regarding the ability of initial rs-FC to predict learning ability, we performed a Spearman's correlation analysis between the pre-training rs-FC and post-training performance (Test 3). Finally, partial correlation analyses controlling for Test 1 and Test 2 were performed to investigate learning effects.

## **Results**

### **I. Experiment 1**

#### **Behavioral Data**

Behavioral results showed at chance accuracy at baseline and a significant increased mean accuracy after learning (see Figure 2). Performance inside and outside the scanner did not correlate before training ( $p > .10$ ) but were strongly correlated after training ( $r = 0.55$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 18$ ). Moreover, there were no significant correlations between pre-training and post-training performance for the non-native contrast (inside scanner:  $r = 0.16$ ,  $p < 0.51$ ,  $n = 18$ ; outside scanner:  $r = 0.005$ ,  $p < 0.98$ ,  $n = 19$ ), but there was a trend toward significant correlation between both measures for the native contrast (inside scanner:  $r = 0.44$ ,  $p < 0.07$ ,  $n = 18$ ).



We analyzed performance inside the scanner using a 2 x 2 repeated measures ANOVA with Contrast (Native/Non-Native) and Time (Pre/Post) as within-subjects factors. The analysis yielded significant main effects for Contrast,  $F(1,17) = 495.81$ ,  $p < 0.001$ , and Time,  $F(1,17) = 18.64$ ,  $p < 0.001$ . As expected, Contrast x Time reached significance,  $F(1,17) = 5.14$ ,  $p < 0.04$ , indicating more learning for the non-native contrast than for the native contrast. MANOVAs for each contrast separately showed better performance for the non-native contrast after learning ( $F(1,17) = 16.92$ ,  $p < 0.04$ ) but not for the native contrast ( $p > 0.06$ ). Performance outside the scanner was analyzed using a paired  $t$ -test that revealed a significant increment of performance after learning,  $t(18) = 9.38$ ,  $p < 0.001$ .

To discard the possibility that neural differences were driven by performance confounds such as different response speeds (Poldrack, 2000), we collected response times inside the scanner before and after training. The response time (in seconds) of the native condition (pre-training:  $M = 0.69$ ,  $SD = 0.11$ ; post-training:  $M = 0.65$ ,  $SD = 0.14$ ;  $n = 18$ ) and non-native condition (pre-training:  $M = 0.77$ ,  $SD = 0.13$ ; post-training:  $M = 0.85$ ,  $SD = 0.19$ ;  $n = 18$ ) did not differ between both time periods, removing this potential confound ( $p > .10$ ). Thus, differences in brain activity between pre-training and post-training were not due to differences in response speed.

### **The Phoneme Identification fMRI Task**

One-sample  $t$ -tests yielded results similar to a previous study (Golestani and Zatorre, 2004). We obtained significant activations for the native contrast (native minus noise) during pre-training in the bilateral inferior frontal operculum/anterior insula regions, bilateral superior temporal gyrus right middle frontal gyrus, and right inferior parietal lobe (Figure 3A). The same contrast after training involved similar regions with additional activation in the left inferior parietal lobe and bilateral caudate head (Figure 3B). For the non-native contrast (non-native minus noise), significant activations were obtained in the bilateral inferior frontal operculum/anterior insula regions, bilateral superior temporal gyrus, and right middle frontal

gyrus (Figure 3C). After training, we observed additional activations in the bilateral inferior parietal lobe, bilateral caudate head and right cingulate gyrus (Figure 3D).

As expected, the comparison between pre-training and post-training brain activity showed no differences for the native contrast but an increased response of the bilateral inferior frontal operculum/anterior insula region, left inferior parietal lobe and left superior parietal lobe after training for the non-native contrast (Figure 4A; also see Table 4 of Golestani and Zatorre (2004) for previous results with the same task). Importantly, the BOLD response at the left inferior frontal gyrus (operculum) after training correlated positively with behavioral improvement (Figure 4B).

### **Rs-FC results**

#### ***Seed-based rs-FC***

ROIs derived from the fMRI task results were employed as seed regions for rs-fMRI analyses (Figure 4C). Using the contrast and mask detailed in the Methods (see Post-Hoc Definition of ROIs), we identified three seed regions associated with the effects of training (Post-Training Non-Native > Pre-Training Native): LFO/aI, left superior parietal lobe (LSPL), and left supramarginal gyrus (LSMG). We also obtained one seed region associated with the effects of the contrast Pre-Training Native > Post-Training Non-Native as a control: the left middle temporal gyrus (LMTG).

To examine the rs-FC between the seed regions, we performed pairwise linear correlation analyses before and after training (see mean z-values in Figure 5A). Seed regions associated with the effects of training correlated positively between each other and negatively with the LMTG. The only significant change in rs-FC after training was a reduction of rs-FC between the LFO/aI and LSPL ( $t = 3.27$ ,  $p < 0.004$ ; see Figure 5A). Critically, post-training performance correlated positively with pre-training rs-FC between these two areas—showing that the greater the rs-FC before training, the better the learning (Figure 5B1)—and negatively with the change (post-training minus pre-training) in rs-FC between these areas—showing that the greater the reduction in rs-FC after training, the better the performance outcome (Figure 5B2).

### ***Intrinsic rs-FC networks***

To understand the reduction in the magnitude of correlation between the LFO/aI and LSPL after learning (Figure 5A), four steps were undertaken to identify the RSNs evoked by the seed regions. First, we determined the RSNs associated with these seed regions before and after training. Following the four steps explained in the Methods, we obtained the RSNs of intrinsic connectivity through ICA, identifying 14 RSNs common to both rs-fMRI periods (illustrated in Figure 6). We classified our 14 RSNs based on networks reported in previous studies (Allen et al., 2011, Beckmann et al., 2005, Calhoun et al., 2008, Veer et al., 2010), those showing that RSNs were consistent across participants and over time (Damoiseaux et al., 2006, Shehzad et al., 2009), and those demonstrating a remarkable overlap with patterns of task-induced activity (Smith et al., 2009). Then, we generated *the seed-based FC-maps* for each seed region that presented significant changes in rs-FC (LFO/aI and LSPL). Using this approach, we observed two distinct FC-maps (pre-training in Figure 7A and post-training in Figure 7B). Finally, we carried out a spatial correlation of the two FC-maps with each RSN obtained by ICA before and after training to select the RSN associated with the LFO/aI and LSPL seeds (see Figure 7C). Considering the magnitude of these spatial correlations, and after confirming the correspondence between FC-maps and RSNs through visual evaluation (Correa et al., 2007), we determined that the RSNs of interest associated with the LFO/aI were the salience network and the left fronto-parietal network, whereas only the left fronto-parietal network was associated with the LSPL.

We then calculated the intrinsic rs-FC of each seed within each associated RSN (Figure 7D). Results showed that the intrinsic rs-FC of the LFO/aI decreased within the left fronto-parietal network and increased within the salience network after learning while the LSPL was similarly anchored in the left fronto-parietal network before and after learning (Figure 7D). Moreover, the intrinsic change in rs-FC of the LFO/aI within the salience network correlated negatively with post-training rs-FC between the LFO/aI and LSPL (Figure 7E). Therefore, less

post-training rs-FC between the LFO/aI and LSPL was associated with stronger involvement of the LFO/aI in the salience network after training.

## II. Experiment 2

As in Experiment 1, results confirmed that performance improved with training. A one-way repeated measure ANOVA, with Time (Test 1, Test 2, and Test 3) as an independent variable, revealed a significant linear effect,  $F(1,27) = 30.74$ ,  $p < 0.001$ , demonstrating a clear improvement in performance as a function of training (Figure 8A).

Replicating Experiment 1, we found that the pre-training rs-FC between the LFO/aI and LSPL correlated significantly with post-training performance (Test 3; see Figure 8B). We additionally performed a partial correlation analysis controlling for Tests 1 and 2 together (see Figure 8C) and separately (Test 1:  $r = 0.36$ ,  $p = 0.06$ ; Test 2:  $r = 0.46$ ,  $p < 0.05$ ).

## Discussion

In the present study, we obtained converging evidence with past results demonstrating that the left superior parietal lobe (LSPL), left frontal operculum/anterior insula (LFO/aI), and left supramarginal gyrus (LSMG) increased in activation after learning and during processing of the non-native phonetic contrast (Golestani and Zatorre, 2004). Crucially, the current results are the first to our knowledge to demonstrate that initial rs-FC between areas related to learning a non-native phonetic contrast (i.e., the LFO/aI and LSPL) could account for the degree of learning ability after distributed (Experiment 1) and intensive (Experiment 2) training. Furthermore, Experiment 1 also described how the intrinsic activity of the LFO/aI within its associated RSN was modified after 2 weeks of training in phonetic learning. Thus, rs-FC between brain areas involved in phonetic learning may predict learning outcomes before experience comes into play, and may serve to explain how the brain is modified by learning.

Participants in both experiments showed poor performance identifying the Hindi non-native contrast at baseline but considerable improvement whether they had 2 weeks or a single hour of intense training. Experiment 1 demonstrated that distributed training was associated

with increased activation in language-related areas such as the LFO/aI and LSMG (Golestani and Zatorre, 2004). These language-related areas participate in different language functions, including articulatory planning and covert articulation (Brown et al., 2009, Price, 2010). Importantly, our results also showed that activation in the LFO/aI correlated positively with task performance. The LSPL increased in activation with learning as well, although this brain area is not directly related to language. However, Golestani and Zatorre (2004) also reported activation in the LSPL after phonetic learning. In addition, another previous study of this group found a relationship between increased white volume in the left inferior and superior parietal areas and faster learning of a non-native contrast (Golestani et al., 2002). Finally, recent results have shown that the LSPL might contribute to auditory selective attention in complex situations (Bishop and Miller, 2009, Westerhausen et al., 2010).

The pattern of rs-FC and RSNs obtained in our resting-state analyses has also confirmed previous results. Firstly, the pattern of rs-FC between task-related seeds was consistent with recent descriptions of brain networks. More concretely, the pattern of connectivity between the relevant regions previously described was consistent with a recent study of 970 healthy participants, designed to describe the language networks (Tomasi and Volkow, 2012). First, we found strong rs-FC between LFO/aI and LSMG, two brain areas included in the language networks. Secondly and importantly for this study, weak rs-FC between LFO/aI and LSPL was also found in Tomasi and Volkow's (2012) study. Third, activity in the left middle temporal gyrus (LMTG; in this study, related to native phoneme identification) has been previously associated with the auditory network. In addition, the LMTG has been shown to be poorly correlated or anticorrelated with other language areas (LFO/aI and LSMG), reflecting functional segregation of the auditory cortex and language areas. Finally, the strong correlation between the LSPL and LSMG reflected the adscription of both areas to the left fronto-parietal network (Nelson et al., 2010).

The second aspect in resting-state analyses is the identification of RSNs according to previous literature (see Figure 6; (Allen et al., 2011, Veer et al., 2010). Importantly for the

present study, ICA has revealed the involvement of both the left fronto-parietal and salience networks both at pre- and post-training, and we have identified the LFO/aI as a key node common to both networks. The left fronto-parietal network is thought to mediate goal-directed top-down processing (Corbetta and Shulman, 2002, Vincent et al., 2008). In the specific case of auditory processing, this network is activated in situations requiring active top-down processing of complex auditory information (Westerhausen et al., 2010) as well as bottom-up triggered and top-down controlled shifting between auditory stimuli (Salmi et al., 2009). The salience network is a task-control network related to the resolution of conflicts and ambiguities, especially to stimuli with a certain degree of personal salience (Eichele et al., 2008, Klein et al., 2007, Ridderinkhof et al., 2004).

Considering the replication of previous task-related fMRI and resting-state results, the key finding of both experiments in the present study is that the rs-FC between the LSPL and LFO/aI represents a neural predictor of learning outcomes after training. In other words, we can relate non-native contrast learning to a pre-learning measure of rs-FC between brain areas involved in the task. This crucial finding should be interpreted in light of further results obtained in the present study. First, the mean magnitude of this correlation was rather low. Second, the rs-FC between these areas presented an important degree of variability across participants (from  $r = -0.26$  to  $r = 0.56$ ), especially compared to the strong rs-FC between the LSMG and LFO/aI and between the LSMG and LSPL. This variability may reflect the possible existence of a dorsal component of the inferior frontal occipital fasciculus that connects the superior parietal lobe and frontal operculum, described in a reduced number of participants (i.e., 64%) in recent post-mortem studies (Martino et al., 2010, Martino et al., 2011). We may then speculate that the degree of coherence in rs-FC may be associated with individual differences in structural connectivity between the LSPL and LFO/aI that may facilitate subsequent auditory discrimination of complex sounds.

A third relevant factor was that the only significant change in rs-FC between seeds after training was observed between the LFO/aI and LSPL. That is, training significantly reduced the

mean connectivity of spontaneous brain activity between these areas, and the magnitude of this reduction was positively correlated with learning outcomes. Studying the RSNs associated with these seeds revealed that learning caused activity of the LFO/aI to be decoupled from the left fronto-parietal network and increased intrinsic activity within the salience network. In this sense, the LFO/aI seemed to operate to identify new salient stimuli through the salience network. After 2 weeks of learning and receiving continuous feedback during phonemic training, these stimuli became salient (participants were able to discriminate them), the task-evoked brain activity of the LSPL and LFO/aI increased considerably in the presence of these stimuli, and the LFO/aI modified its intrinsic brain activity at rest (more related to the salience network). In sum, non-native identification learning over 2 weeks had probably sculpted brain activity in the area most related to phonemic learning by biasing its activity toward the management of salient stimuli. Future studies should confirm the relevance of this mechanism in other language tasks as well as the persistence of these changes in the brain.

Finally, Experiment 2 was designed to confirm the crucial result obtained in Experiment 1 in a new and larger sample. Results corroborated that pre-training rs-FC between the LSPL and LFO/aI predicted the ability for phonetic learning. Although the training was intensive (1 hour) in this experiment, the rs-FC between target seeds was similarly correlated with final performance and learning. Future studies should elucidate if the changes in brain task activity and networks reported in Experiment 1 would be observed after this intensive training.

We conclude that our findings demonstrate the capacity of rs-fMRI not only to predict learning outcomes, but also to determine brain changes associated with learning by analyzing changes in rs-FC. Previous results have shown that spontaneous activity in the brain measured by rs-fMRI may be related to actual anatomical circuitry, cognitive performance, and behavioral deficits (Baldassarre et al., 2012). Our results unveil that the spontaneous coherence in the brain may also reflect its potential to incorporate new knowledge. Furthermore, our longitudinal analysis combining both task-related fMRI and rs-fMRI has allowed us to establish a correspondence between different brain regions involved in learning and to use spontaneous activity in these

specific areas to account for individual differences in learning. Generalizing the specific methodology employed here may serve to determine a priori the potentialities of the brain with subsequent applicability in the fields of education and clinical health.

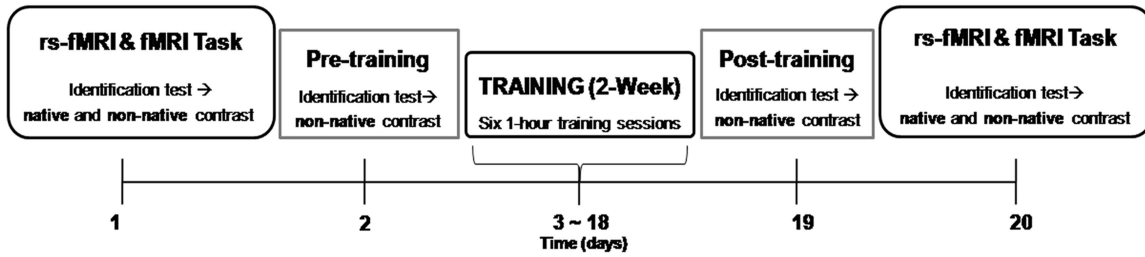
## References

- Abou-Elseoud A, Starck T, Remes J, Nikkinen J, Tervonen O, Kiviniemi V (2010) The effect of model order selection in group PICA. *Hum Brain Mapp* 31:1207-1216.
- Allen EA, Erhardt EB, Damaraju E, Gruner W, Segall JM, Silva RF, Havlicek M, Rachakonda S, Fries J, Kalyanam R, Michael AM, Caprihan A, Turner JA, Eichele T, Adelsheim S, Bryan AD, Bustillo J, Clark VP, Feldstein Ewing SW, Filbey F, Ford CC, Hutchison K, Jung RE, Kiehl KA, Koditwakku P, Komesu YM, Mayer AR, Pearlson GD, Phillips JP, Sadek JR, Stevens M, Teuscher U, Thoma RJ, Calhoun VD (2011) A baseline for the multivariate comparison of resting-state networks. *Front Syst Neurosci* 5:2.
- Baldassarre A, Lewis CM, Committeri G, Snyder AZ, Romani GL, Corbetta M (2012) Individual variability in functional connectivity predicts performance of a perceptual task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:3516-3521.
- Beckmann CF, DeLuca M, Devlin JT, Smith SM (2005) Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360:1001-1013.
- Bell AJ, Sejnowski TJ (1995) An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Comput* 7:1129-1159.
- Bishop CW, Miller LM (2009) A multisensory cortical network for understanding speech in noise. *J Cogn Neurosci* 21:1790-1805.
- Biswal B, Yetkin FZ, Houghton VM, Hyde JS (1995) Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med* 34:537-541.
- Brown S, Laird AR, Pfordresher PQ, Thelen SM, Turkeltaub P, Liotti M (2009) The somatotopy of speech: phonation and articulation in the human motor cortex. *Brain Cogn* 70:31-41.
- Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL (2008) The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci* 1124:1-38.
- Calhoun VD, Adali T, Pearlson GD, Pekar JJ (2001) A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Hum Brain Mapp* 14:140-151.
- Calhoun VD, Kiehl KA, Pearlson GD (2008) Modulation of temporally coherent brain networks estimated using ICA at rest and during cognitive tasks. *Hum Brain Mapp* 29:828-838.
- Calhoun VD, Pekar JJ, McGinty VB, Adali T, Watson TD, Pearlson GD (2002) Different activation dynamics in multiple neural systems during simulated driving. *Hum Brain Mapp* 16:158-167.
- Cole DM, Smith SM, Beckmann CF (2010) Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state fMRI data. *Front Syst Neurosci* 4:8.
- Corbetta M, Shulman GL (2002) Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 3:201-215.
- Correa N, Adali T, Calhoun VD (2007) Performance of blind source separation algorithms for fMRI analysis using a group ICA method. *Magn Reson Imaging* 25:684-694.

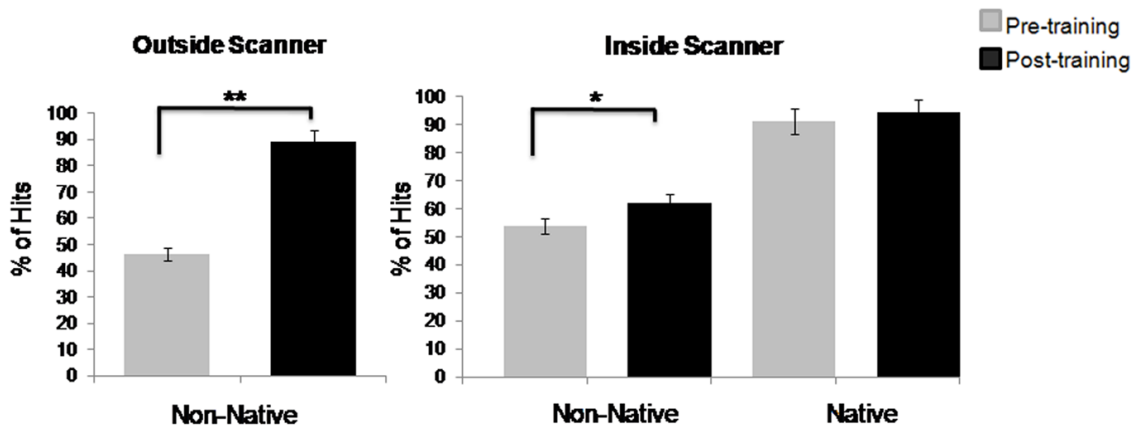


- Chao-Gan Y, Yu-Feng Z (2010) DPARSF: A MATLAB Toolbox for "Pipeline" Data Analysis of Resting-State fMRI. *Front Syst Neurosci* 4:13.
- Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Smith SM, Beckmann CF (2006) Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:13848-13853.
- Deng Y, Booth JR, Chou TL, Ding GS, Peng DL (2008) Item-specific and generalization effects on brain activation when learning Chinese characters. *Neuropsychologia* 46:1864-1876.
- Eichele T, Debener S, Calhoun VD, Specht K, Engel AK, Hugdahl K, von Cramon DY, Ullsperger M (2008) Prediction of human errors by maladaptive changes in event-related brain networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:6173-6178.
- Erhardt EB, Rachakonda S, Bedrick EJ, Allen EA, Adali T, Calhoun VD (2011) Comparison of multi-subject ICA methods for analysis of fMRI data. *Hum Brain Mapp* 32:2075-2095.
- Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME (2005) The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9673-9678.
- Friston KJ, Rotshtein P, Geng JJ, Sterzer P, Henson RN (2006) A critique of functional localisers. *Neuroimage* 30:1077-1087.
- Golestani N, Paus T, Zatorre RJ (2002) Anatomical correlates of learning novel speech sounds. *Neuron* 35:997-1010.
- Golestani N, Zatorre RJ (2004) Learning new sounds of speech: reallocation of neural substrates. *Neuroimage* 21:494-506.
- Golestani N, Zatorre RJ (2009) Individual differences in the acquisition of second language phonology. *Brain Lang* 109:55-67.
- Himberg J, Hyvarinen A, Esposito F (2004) Validating the independent components of neuroimaging time series via clustering and visualization. *Neuroimage* 22:1214-1222.
- Kiviniemi V, Starck T, Remes J, Long X, Nikkinen J, Haapea M, Veijola J, Moilanen I, Isohanni M, Zang YF, Tervonen O (2009) Functional segmentation of the brain cortex using high model order group PICA. *Hum Brain Mapp* 30:3865-3886.
- Klatt D (1980) Software for a Cascade/Parallel Formant Synthesizer. *J Acoust Soc Am* 67:13-33.
- Klein TA, Endrass T, Kathmann N, Neumann J, von Cramon DY, Ullsperger M (2007) Neural correlates of error awareness. *Neuroimage* 34:1774-1781.
- Lewis CM, Baldassarre A, Committeri G, Romani GL, Corbetta M (2009) Learning sculpts the spontaneous activity of the resting human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:17558-17563.
- Lowe MJ, Mock BJ, Sorenson JA (1998) Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations. *Neuroimage* 7:119-132.
- Martino J, Brogna C, Robles SG, Vergani F, Duffau H (2010) Anatomic dissection of the inferior fronto-occipital fasciculus revisited in the lights of brain stimulation data. *Cortex* 46:691-699.
- Martino J, De Witt Hamer PC, Vergani F, Brogna C, de Lucas EM, Vazquez-Barquero A, Garcia-Porrero JA, Duffau H (2011) Cortex-sparing fiber dissection: an improved method for the study of white matter anatomy in the human brain. *J Anat* 219:531-541.
- Nelson SM, Cohen AL, Power JD, Wig GS, Miezin FM, Wheeler ME, Velanova K, Donaldson DI, Phillips JS, Schlaggar BL, Petersen SE (2010) A parcellation scheme for human left lateral parietal cortex. *Neuron* 67:156-170.
- Poldrack RA (2000) Imaging brain plasticity: conceptual and methodological issues--a theoretical review. *Neuroimage* 12:1-13.
- Polka L (1991) Cross-language speech perception in adults: phonemic, phonetic, and acoustic contributions. *J Acoust Soc Am* 89:2961-2977.

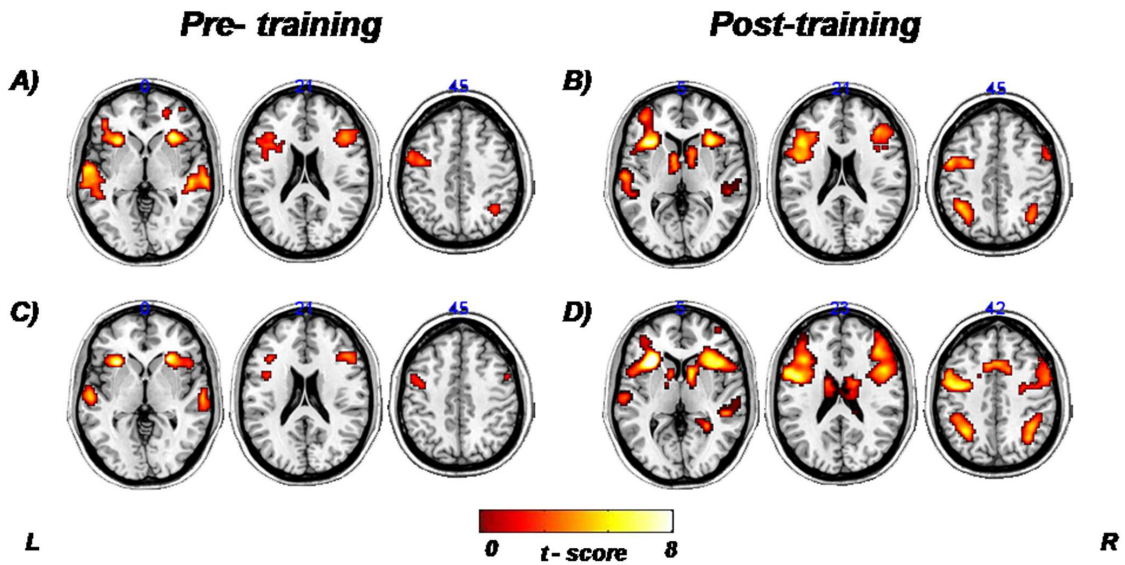
- Price CJ (2010) The anatomy of language: a review of 100 fMRI studies published in 2009. *Ann N Y Acad Sci* 1191:62-88.
- Ridderinkhof KR, Ullsperger M, Crone EA, Nieuwenhuis S (2004) The role of the medial frontal cortex in cognitive control. *Science* 306:443-447.
- Salmi J, Rinne T, Koistinen S, Salonen O, Alho K (2009) Brain networks of bottom-up triggered and top-down controlled shifting of auditory attention. *Brain Res* 1286:155-164.
- Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, Keller J, Glover GH, Kenna H, Reiss AL, Greicius MD (2007) Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *J Neurosci* 27:2349-2356.
- Shehzad Z, Kelly AM, Reiss PT, Gee DG, Gotimer K, Uddin LQ, Lee SH, Margulies DS, Roy AK, Biswal BB, Petkova E, Castellanos FX, Milham MP (2009) The resting brain: unconstrained yet reliable. *Cereb Cortex* 19:2209-2229.
- Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, Filippini N, Watkins KE, Toro R, Laird AR, Beckmann CF (2009) Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:13040-13045.
- Staeren N, Renvall H, De Martino F, Goebel R, Formisano E (2009) Sound categories are represented as distributed patterns in the human auditory cortex. *Curr Biol* 19:498-502.
- Takeuchi H, Taki Y, Hashizume H, Sassa Y, Nagase T, Nouchi R, Kawashima R (2011) Effects of training of processing speed on neural systems. *J Neurosci* 31:12139-12148.
- Tomasi D, Volkow ND (2012) Resting functional connectivity of language networks: characterization and reproducibility. *Mol Psychiatry* 17:841-854.
- Veer IM, Beckmann CF, van Tol MJ, Ferrarini L, Milles J, Veltman DJ, Aleman A, van Buchem MA, van der Wee NJ, Rombouts SA (2010) Whole brain resting-state analysis reveals decreased functional connectivity in major depression. *Front Syst Neurosci* 4:
- Vincent JL, Kahn I, Snyder AZ, Raichle ME, Buckner RL (2008) Evidence for a frontoparietal control system revealed by intrinsic functional connectivity. *J Neurophysiol* 100:3328-3342.
- Werker JF, Lalonde CE (1988) Cross-language speech perception: initial capabilities and development change. *Development Psychobiology* 24:672-683.
- Westerhausen R, Moosmann M, Alho K, Belsby SO, Hamalainen H, Medvedev S, Specht K, Hugdahl K (2010) Identification of attention and cognitive control networks in a parametric auditory fMRI study. *Neuropsychologia* 48:2075-2081.
- Ystad M, Eichele T, Lundervold AJ, Lundervold A (2010) Subcortical functional connectivity and verbal episodic memory in healthy elderly--a resting state fMRI study. *Neuroimage* 52:379-388.



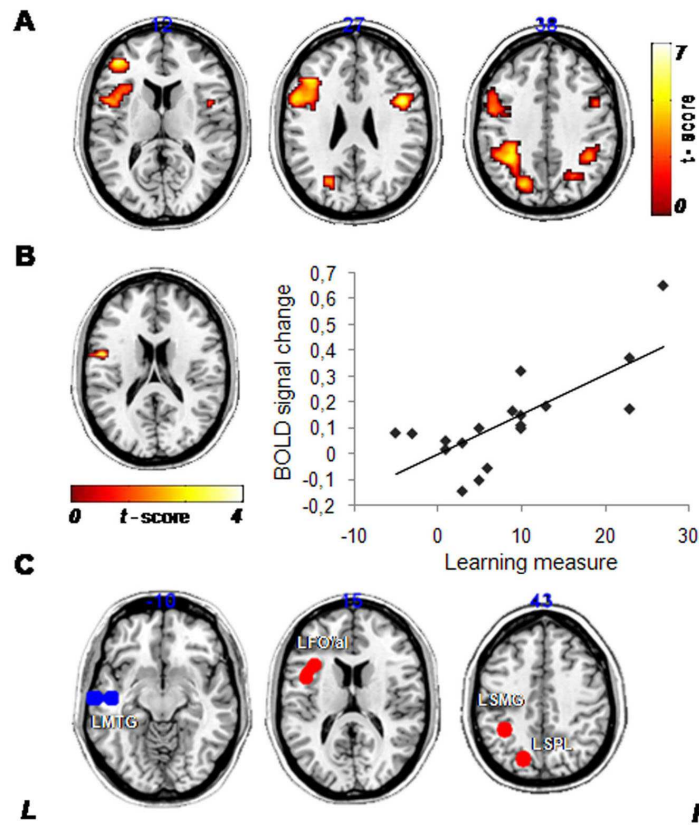
**Figure 1. Schematic time representation of the experimental procedure.** The first fMRI data acquisition was followed by the pre-training test, training sessions (2-week behavioral phonetic training with the non-native contrast), post-training test, and second fMRI data acquisition.



**Figure 2. Pre-training and post-training behavioral performance.** There were significant differences in identification performance with regard to the non-native phonetic condition outside the scanner ( $p < 0.001$ ; left) and inside the scanner during the phoneme identification fMRI task ( $p < 0.04$ ; right)

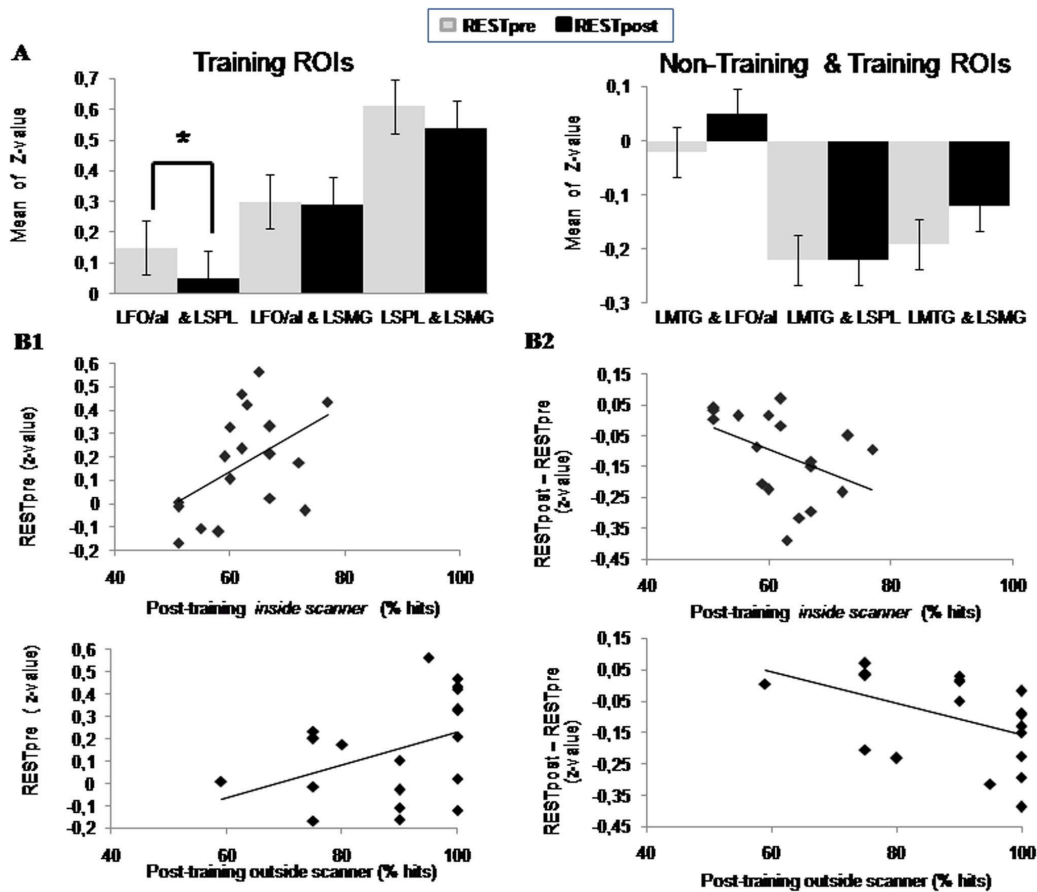


**Figure 3. One-sample  $t$ -test of the phoneme identification fMRI task.** The brain activity pattern related to the pre-training and post-training conditions for both native and non-native contrasts, corrected for multiple comparisons (Monte Carlo, FWE  $p < 0.05$ ). These statistical parametric maps present the BOLD signal changes for the A) pre-training native contrast (native minus noise), B) post-training native contrast (native minus noise), C) pre-training non-native contrast (non-native minus noise), and D) post-training non-native contrast (non-native minus noise). Functional images are displayed on a standard brain template (MNI). (L = left, R = right).



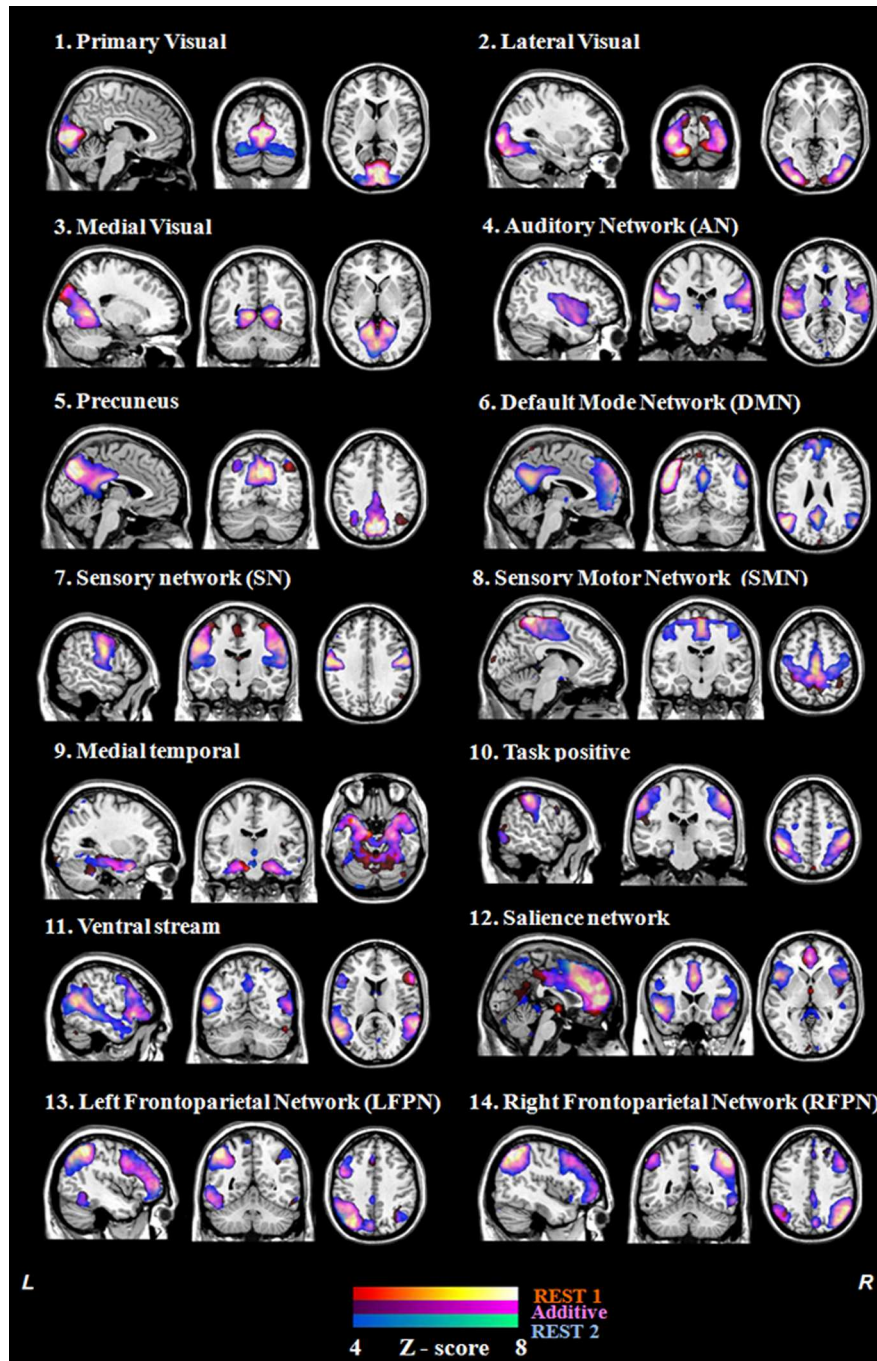
**Figure 4. Results of the phoneme identification fMRI task. A) Post-training versus pre-training non-native contrast:** Statistical parametric maps representing the comparison of post-training versus pre-training brain activity during the non-native contrast (non-native minus noise) corrected for multiple comparisons (FWE correction at  $p < 0.05$  determined by Monte Carlo simulation). Similar to Golestani and Zatorre (2004), the effects of non-native contrast training resulted in increased functional activity in the bilateral FO/aI, LSPL, and LSMG. There were no significant differences in the comparison of post-training and pre-training for the native contrast. **B) Performance correlates of fMRI data:** The left inferior frontal gyrus (BA 44 at Montreal Neurological Institute [MNI] coordinates: -54, 3, 27;  $z$ -value = 3.51) was positively correlated with the learning measure (post- minus pre-training identification scores) recorded inside the scanner during the presentation of the post-training non-native contrast ( $p < 0.05$ , FWE corrected at the cluster level). **C) ROI definition:** Illustration of the seed regions selected for the rs-FC analysis obtained by spheres of 8-mm radius centered on peaks of the ROIs derived from task-related fMRI data. This procedure lets us identify the brain areas involved in:

i) processing of the non-native contrast, Post-Training Non-Native > Pre-Training Native (LFO/aI, LSPL, and LSMG in red), and ii) processing of the native contrast, Pre-Training Native > Post-Training Non-Native (LMTG in blue). L = left; R = right.



**Figure 5. Changes in rs-FC associated with non-native phoneme identification training in Experiment 1.** **A)** Comparison of pairwise correlation coefficients (z-value) of “training ROIs” (LFO/aI, LSMG, LSPL) and a “non-training ROI” (LMTG) between rs-fMRI periods: pre-training (RESTpre) in light blue and post-training (RESTpost) in dark blue. We only observed a significant decrease in rs-FC of the LFO/aI and LSPL,  $t(18) = 3.27$ ,  $p < 0.004$ . **B1)** Pre-training rs-FC between the LFO/aI and LSPL became significantly correlated with post-training identification performance recorded inside the scanner,  $r_s = 0.51$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 18$ , and outside the scanner,  $r_s = 0.46$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 19$ . **B2)** Changes in rs-FC between the LFO/aI and LSPL

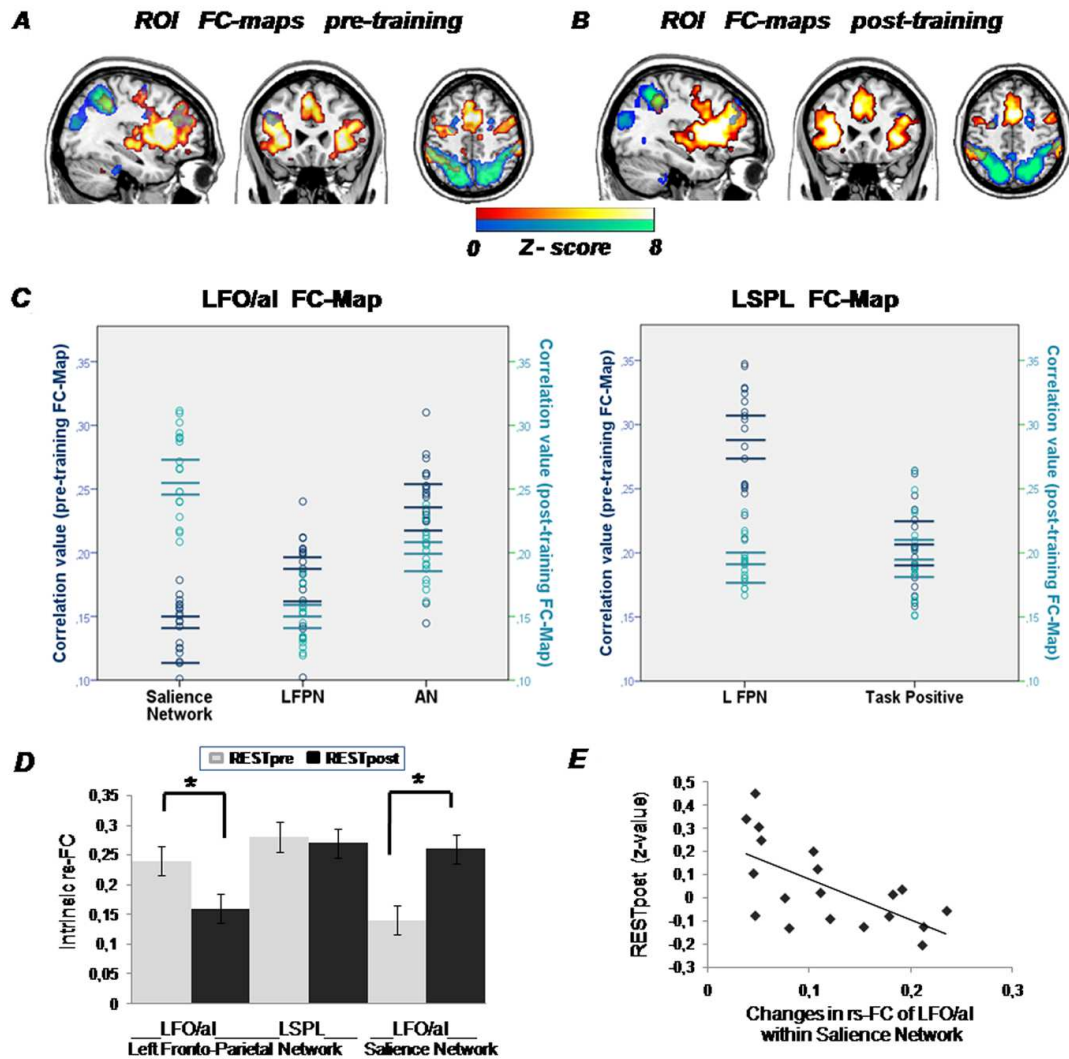
were inversely correlated with post-training identification performance recorded inside the scanner,  $r_s = -0.53$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 18$ , and outside the scanner  $r_s = -0.56$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 19$ .



**Figure 6. Group-ICA estimated RSN.** Spatial maps of 14 ICs identified as RSNs of each rs-fMRI period: pre-training (red-orange bar), post-training (blue-green bar), and the common regions (violet bar; overlaid on the MNI standard brain). The 14 RSNs consist of three networks

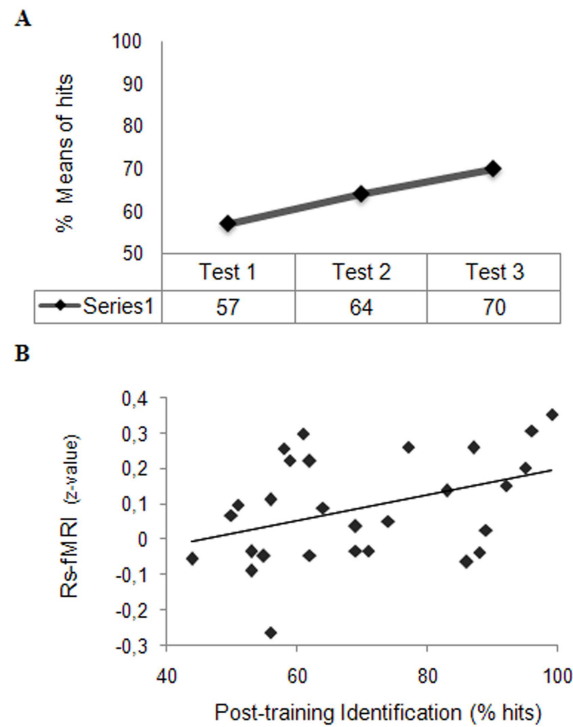
corresponding to the visual system represented by the **(1)** primary visual network (inferior occipital gyrus), **(2)** lateral visual network (middle occipital gyrus), and **(3)** medial visual network (superior occipital gyrus); **(4)** the auditory network (AN), which includes the bilateral middle and superior temporal gyri, posterior insular cortex, superior temporal sulcus, and Heschl gyrus; **(5)** precuneus network; **(6)** default mode network (DMN) involving the posterior cingulate cortex/precuneus region, bilateral inferior parietal gyrus, middle temporal gyrus, and anterior cingulate gyrus; two more networks corresponding to motor and somatosensory functions: the **(7)** sensory network and **(8)** sensory-motor network; **(9)** medial temporal network including the hippocampus-amygdala complex; the attentional networks composed of the **(10)** task-positive network reminiscent of the dorsal attention network, **(11)** ventral stream network, and **(12)** salience network including the anterior cingulate, bilateral anterior insular, and dorsolateral prefrontal cortices; and **(13)** left fronto-parietal (LFPN) and **(14)** right fronto-parietal (RFPN) lateralized networks including the dorsolateral prefrontal cortex, ventrolateral prefrontal cortex, dorsomedial prefrontal cortex, parietal cortices as well as a site in the fronto-insula. L = left; R = right.





**Figure 7. Networks during rs-fMRI periods.** Temporal correlations in BOLD signal for each seed ( $p < 0.05$ , FWE cluster corrected) determined the FC-map of the LFO/aI (red-orange bar) and LPSL (blue-green bar) (A) before training and (B) after training. Before training (A), the LFO/aI showed rs-FC with the right inferior frontal operculum/anterior insula, bilateral frontal lobe, bilateral temporal lobe, cingulate gyrus, bilateral inferior parietal lobe, bilateral caudate, thalamus, and LSPL. On the other hand, the LSPL involved the bilateral inferior and superior parietal lobe, bilateral inferior temporal gyrus, bilateral middle frontal gyrus, bilateral superior frontal gyrus, cingulate gyrus, right inferior frontal gyrus, and left frontal operculum. After training (B), the LFO/aI showed rs-FC with the same areas as before training except with the LSPL, and LSPL also showed rs-FC with the same areas as before training except with the left

frontal operculum. **C)** Individual variance in correlation using these FC-maps as templates for a subsequent ICA. Spatial correlation scores obtained through the spatial correlation sorting option in GIFT are shown for each participant's best-fit images. The salience network, left fronto-parietal network (LFPN), and auditory network (AN) were associated with the LFO/aI FC-map, and the LFPN and task-positive network were associated with the LSPL FC-map. Bars indicate means and 95% confidence intervals. **D)** The weighted mean of each seed within the RSNs, obtained by extracting the first eigenvariate in SPM8 and representing intrinsic rs-FC, was used for paired *t*-test analyses. The results demonstrated a significant increase in intrinsic rs-FC of the LFO/aI within the salience network,  $t(18) = 7.723$ ,  $p < 0.001$ , and a significant decrease in intrinsic rs-FC within the left fronto-parietal network,  $t(18) = -3.89$ ,  $p < 0.001$ , after training while no change was observed for the LSPL within the left fronto-parietal network. **E)** Changes in intrinsic rs-FC of the LFO/aI within the salience network correlated negatively with post-training rs-FC of the LFO/aI and LSPL ( $r_s = -0.59$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 19$ ). L = left; R = right.



**Figure 8. Changes in rs-FC associated with non-native phoneme identification training in Experiment 2.** **A)** Behavioral performance of 28 participants on the identification of the non-native contrast. The three learning measures after each training session (learning curve) showed that performance improved with training. **B)** Rs-FC between the LFO/aI and LSPL of 28 participants became significantly correlated with Test 3 (post-training identification performance;  $r_s = 0.41$ ,  $p < 0.05$ ), replicating the results obtained in Experiment 1.



## Capítulo 4

# CONCLUSIONES Y PRINCIPALES APORTACIONES

El objetivo de esta tesis ha sido aportar nuevas metodologías y/o nuevas aplicaciones de modelos estadísticos al campo de la neuroimagen que puedan ser de utilidad para los análisis de imágenes de RMe, para descubrir patrones de anormalidad estructural asociados a la EA; y para los análisis de RMf, en el estudio de la plasticidad del cerebro humano asociado a procesos de aprendizaje. Así, en esta tesis se han presentado por una parte, dos estudios relacionados con resultados de análisis de forma en la EA y, por otra parte, un estudio relacionado con resultados de conectividad funcional cerebral. Estas aportaciones han contribuido al desarrollo de la metodología de FDA y “statistical learning” no-supervisado aplicados a análisis de imagen.

Específicamente, en los dos primeros estudios aplicamos FDA en los análisis de imagen de RMe para el estudio de las diferencias hipocampales entre los sujetos pertenecientes a tres grupos: sujetos sanos, pacientes con DCL y pacientes con EA. Por un lado, los análisis de forma para imágenes en 2D reflejaban que la zona del hipocampo con mayor discriminación entre los tres grupos era la cabeza del hipocampo. Esto concuerda con los resultados obtenidos en otros estudios con diferente metodología [189]. También observamos que la medida del área de la estructura nos da más información que únicamente su volumen, ya que podemos observar el cambio de forma en cada corte, obteniendo una buena discriminación entre los grupos. En este estudio la tasa de error de clasificación con volumetría de 5/28 (aproximadamente 18%), pasó a 2/28 (aproximadamente 7%) utilizando únicamente la forma de la región seleccionada de la cabeza hipocampal, aunque como ahora comentaremos, estas diferencias tan grandes en los porcentajes hay que leerlas con precaución, teniendo en cuenta el tamaño reducido de la muestra (28 participantes). También debemos señalar que hemos abordado un problema apenas considerado en la literatura: el de la discriminación de datos funcionales multivariantes, mejorando con la metodología propuesta los resultados obtenidos por la única referencia conocida hasta la fecha [6, capítulo 8], al menos en los problemas considerados. Además, también se ha propuesto una función discriminante basada en ICA, para observar los puntos de mayor discriminación entre grupos, que se ha mostrado de gran utilidad en el estudio. También se ha de destacar, la novedosa aplicación de los datos funcionales en el análisis de imagen, usando un argumento espacial, en vez de temporal, como es habitual en el campo del análisis de datos funcionales. Por otro lado, en el estudio de los análisis de imagen 3D aplicando los esféricos armónicos y la aproximación de FDA, se definieron y usaron PCA funcional (FPCA) e ICA funcional (FICA) con dos argumentos para describir la forma del

hipocampo y su clasificación, los resultados de clasificación con ambos (FPCA y FICA) eran mejores que otras alternativas consideradas, mostrando que la utilización de “feature extraction” es un método potente. También se definió un discriminante lineal funcional con FICA, localizando las diferencias en la estructura del hipocampo izquierdo entre los tres grupos en lugar de mapas de significación. La aplicación de esta metodología produjo resultados significativos entre cada subconjunto de los tres grupos: al comparar sujetos sanos y pacientes con DCL, observamos pérdidas en la cabeza del hipocampo, en particular una pequeña pérdida en la subregión CA1 y parte del subiculum. En la comparación de pacientes con DCL y EA, existe una mayor diferencia en el CA1 (mayor extensión), aunque no existe pérdida en la pequeña porción de CA1 ubicada en la cabeza del hipocampo donde si se encontraban diferencias entre sujetos sanos y DCL, observando también una gran pérdida en la cola del hipocampo, así como a lo largo del subiculum, aunque no tan localizado como ocurría en la comparación de sujetos sanos y DCL. Estos resultados van acorde con la literatura previa [190, 191], donde se encontraba que los DCL con riesgo de conversión a EA mostraban un menor volumen de hipocampo específicamente en las subregiones CA1 y subiculum.

Con el objetivo de ver las diferencias de la pérdida estructural en el hipocampo en la EA, es algo habitual en la literatura considerar las comparaciones dos a dos entre los tres grupos. En este estudio hemos querido observar además de estas diferencias, la progresión de la enfermedad, con lo que hemos introducido los tres grupos en el análisis del discriminante lineal funcional con FICA, obteniendo una separación significativa de los grupos. Finalmente tomando de forma conjunta todos los resultados obtenidos de estos análisis podemos observar cómo las diferencias estructurales empiezan en la subregión CA1 desde la cabeza del hipocampo hasta la cola, con una pérdida progresiva en el subiculum, aunque esta pérdida no es tan pronunciada como en CA1.

En resumen, estos dos primeros estudios, revelan un rol importante del FDA en los análisis de imagen de RMe, enfocados en los análisis de forma. Observamos cómo el uso de FDA en estos análisis muestra una superioridad sobre el resto de aproximaciones (presentadas en los estudios). También vemos como en el primer estudio donde se propone el uso de ICA en lugar de PCA, como se había hecho hasta el momento, permite una mejor observación de la estructura subyacente de los datos. Además, como hemos podido demostrar, FDA puede ser usado tanto en análisis de imágenes bidimensionales como en superficies, mostrando en ambos casos resultados exitosos. La metodología y aplicación de FDA detallada en estos dos estudios, es novedosa no solo en el campo de la neuroimagen sino también en análisis de imagen, donde se usa un argumento espacial para datos funcionales en lugar de un argumento temporal como se suele usar en FDA. Por último, resaltar que esta aplicación no se restringe únicamente a la estructura del hipocampo, sino que puede ser utilizada para cualquier estructura.

Respecto al estudio de RMf, observamos que la combinación de las técnicas de RMf basada en tarea y RMf en estado de reposo, y los distintos modelos estadísticos aplicados de manera complementaria son útiles para comprender los cambios cerebrales producidos por el aprendizaje. Los resultados mostraban un incremento de activación en el hemisferio izquierdo del giro frontal opercular/ínsula anterior (LFO/aI), el lóbulo parietal inferior (LSMG) y el lóbulo parietal superior (LSPL) en la tarea después de un proceso de entrenamiento, convergiendo estos resultados con los obtenidos por Golestani y cols. (2004) [192]. Estas áreas son la señaladas como “regiones cerebrales entrenadas” en el proceso de aprendizaje fonológico. Siguiendo nuestra hipótesis de estudio de plasticidad cerebral, analizamos las bases neurales subyacentes a las diferencias

individuales, y la repercusión del aprendizaje en las redes intrínsecas del cerebro en estado de reposo en estas regiones, para ver qué procesos son los que optimizan la ejecución. El análisis basado en vóxel-semilla dirigido por la tarea, mostraba un único cambio significativo de conectividad funcional entre dos de estas regiones (LFO/aI y LSPL), donde el entrenamiento reducía significativamente su correlación. Asimismo, se realizó un análisis de ICA para examinar qué redes neuronales estaban implicadas en este proceso, y observamos como estas dos regiones que mostraban un cambio en conectividad funcional se asociaban a dos redes neuronales descritas en la literatura como redes de control atencional. Indicando una modificación de la conectividad intrínseca de la región LFO/aI después del entrenamiento: que revelaba una desconexión de la “fronto-parietal network”, red atencional asociada al inicio y ajuste del control cognitivo (respondiendo de manera diferencial según el feedback que recibe de la ejecución, ensayos correctos vs. erróneos) e incrementado su conectividad en la “saliency network”, red asociada con el control de tarea y relacionada con la resolución de conflictos y ambigüedades, especialmente a estímulos con cierto grado de saliencia personal. Finalmente, este es el primer estudio en demostrar que la conectividad funcional entre las dos regiones que cambian debido a un entrenamiento, predicen el grado de habilidad de aprendizaje después de un proceso de entrenamiento tanto a largo como a corto plazo, dado por su conectividad funcional inicial. Mostrando que los participantes que tenían una mayor conectividad funcional inicial entre estas dos regiones de cambio, presentaban un mayor aprendizaje después del entrenamiento. Así como también se observaba un mayor aprendizaje en aquellos participantes que tenían un mayor cambio en conectividad funcional.

Después de presentar estos tres estudios, podemos concluir que:

1. La aproximación mediante *FDA* para el análisis de imagen y en particular para el análisis de forma, tanto en forma 2D como en 3D, muestra una superioridad con respecto a otras aproximaciones utilizadas.
2. La función discriminante multivariante basada en ICA proporciona mejores resultados en discriminación que usando la metodología descrita en la literatura previa.
3. Se obtiene una mejor discriminación de los cambios estructurales de los tres grupos de sujetos usando la forma del hipocampo en lugar del volumen global. En el que podemos determinar los cambios estructurales.
4. El estudio RMf en estado de reposo guiado por RMf basado en tarea abre un nuevo camino para el estudio de cómo el aprendizaje genera plasticidad cerebral.
5. El uso combinado de diferentes técnicas de análisis para la conectividad funcional hace posible la completa interpretación de los resultados, contestando al dónde, cómo y por qué.

El campo de la neuroimagen es una especialidad multidisciplinar, formada por psicólogos, matemáticos, ingenieros, físicos, médicos, etc. En esta tesis de disciplina matemática, se ha querido aportar y desarrollar metodologías que han sido capaz de resolver algunas preguntas existentes en el campo de la neurociencia y en concreto en el análisis de imagen de RM. Abarcando dos de sus técnicas de adquisición de imagen (RMe, RMf), ampliando así la metodología de análisis de imagen a un argumento espacial y otro espacio-temporal.





## Capítulo 5

# LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS

Destacar que FDA es un campo de investigación relativamente reciente debido a que se ha necesitado un gran avance tecnológico para poder manejar este tipo de datos. Por esto todavía existe mucho trabajo pendiente, tanto para seguir profundizando en aspectos teóricos y computacionales, como para explorar nuevas vías de análisis [151].

En los dos primeros estudios, como ya se ha comentado en el capítulo anterior, el tamaño de la muestra es reducido, que aunque muestran resultados muy prometedores, sería positivo replicar con un tamaño de muestra mayor. Al tratarse de un tamaño de muestra reducido, se utilizó una predicción “leave-one-out” para la evaluación del método. Con un tamaño de muestra mayor, sería posible realizar una clasificación supervisada, separando los datos en un conjunto de entrenamiento y uno de test. Mejorando también la selección de las “features” y los resultados de clasificación. Es interesante destacar que la metodología presentada en estos dos estudio se puede extender al uso combinado de datos funcionales con variables aleatorias multivariantes (capítulo 10, [5]), siendo interesante considerar la edad, años de educación, variables clínicas y neuropsicológicas etc. Finalmente, otro punto de interés en este contexto sería el uso de la aproximación FDA en otros problemas (tal como ANOVA funcional o detección de “outliers”) con formas 3D, por ejemplo para estudiar la evolución de la enfermedad en un estudio longitudinal. Además también sería útil aplicarlo a otras estructuras cerebrales de interés como los núcleos caudado y putamen, el globo pálido, la amígdala o estructuras más complejas anatómicamente como el fórnix. Cabe recordar la implicación de estas estructuras en múltiples patologías del Sistema Nervioso Central como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, el Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad, los trastornos de ansiedad o la depresión. Destacar también que el análisis de FDA puede también aplicarse a las imágenes de RMf en la que tenemos un argumento espacio-temporal.

Por otro lado, en el contexto del estudio de la RMf, la metodología desarrollada es absolutamente novedosa en el campo de la neuroimagen al estudiar el aprendizaje en el cerebro mediante análisis ICA y análisis vóxel-semilla de los datos de la RMf en estado de reposo a partir de la guía que supone la RMf asociada a la tarea. Esta aportación metodológica es exportable casi a todo tipo de tarea cognitiva y por tanto en el futuro se podrá aplicar al estudio de como el cerebro aprende en tareas perceptivas, mnésicas, lingüísticas o de cualquier otro ámbito cogni-

tivo. También se puede utilizar para comprobar la efectividad de intervenciones psicológicas, en el campo de la educación o en estudios clínicos. Ello nos puede permitir una mayor comprensión del funcionamiento cerebral entre las regiones implicadas en un proceso de aprendizaje o en la realización de una determinada tarea. Así como el estudio de los patrones (o redes) de conectividad funcional entre este grupo de regiones. Siguiendo la línea de diagnóstico clínico de los dos primeros estudios presentados en esta tesis, sería de especial interés la aplicación de esta metodología en el estudio del diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer. Realizando un estudio de RMf con los tres grupos (sujetos sanos, pacientes con DCL y con EA) escaneados durante la realización de una tarea de memoria y un estado de reposo. Siendo interesante el seguimiento mediante un estudio longitudinal de los pacientes con DCL para estudiar los patrones de conectividad funcional y los cambios en la conectividad asociados a la tarea de memoria en la progresión de la enfermedad, comparando el grupo de pacientes con DCL que han evolucionado en la segunda parte del estudio a EA y los pacientes con DCL que no han evolucionado. Con el objetivo de predecir que áreas relacionadas con la tarea de memoria estarán asociadas a una posible progresión a EA.

En resumen, todas estas aproximaciones en RMe y RMf pueden dar lugar a nuevas estrategias y nuevos biomarcadores para el diagnóstico precoz de la EA basándonos en un estadio previo a la enfermedad, como son los pacientes con DCL.

# Bibliografía

- [1] Epifanio I. and Ventura-Campos N., (2011), “Functional data analysis in shape analysis”. *Computational Statistics and Data Analysis*, 55(9), 2758–2773.
- [2] Epifanio I. and Ventura-Campos N., (2012), “Hippocampal shape in Alzheimer’s disease using functional data analysis”. *Biostatistics (submitted)*.
- [3] Ventura-Campos N., Sanjuán A., González J., Palomar-García MA., Rodríguez-Pujadas A., Sebastián-Gallés N., Deco G., and Ávila C., (2013), “Spontaneous brain activity predicts learning ability of foreign sounds”. *Journal of Neuroscience (submitted)*.
- [4] Hastie T., Tibshirani R., and J. Friedman, (2009), *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction*, Springer.
- [5] Ramsay J. O. and Silverman B. W., (2005), *Functional Data Analysis*, Springer.
- [6] Ramsay J. O. and Silverman B. W., (2002), *Applied Functional Data Analysis*, Springer.
- [7] Nettel-Aguirre A., (2008), “Nuclei shape analysis, a statistical approach”. *Image Analysis and Stereology*, 27, 1–10.
- [8] Dugué M, Neurogroschel J., Sewell M., and Marin D., (2003), “Review of dementia”. *The Mount Sinai journal of Medicine*, 70, 45–53.
- [9] Nestor P.J., Scheltens P., and Hodges JR., (2004), “Advances in the early detection of Alzheimer’s disease”. *Nature Neuroscience Review*, Neurodegeneration, S34–41.
- [10] McKhann G., Drachmann D., Fostein M., Katzman R., Price D., and Stadlan E., (1984), “Clinical diagnosis of Alzheimer’s disease. Report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer’s disease”. *Neurology*, 34, 939–944.
- [11] Morris J.C., (1993), “The clinical dementia rating (CDR): Current version and scoring rules”. *Neurology*, 43, 2412–2414.
- [12] Suribhatla S., Baillon S., Dennis M., Marudkar M., Muhammad S., Munro D., Spreadbury C., and Lindsay J., (2004), “Neuropsychological performance in early and late onset Alzheimer’s disease: comparisons in a memory clinic population”. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 19, 1140–1147.
- [13] Ritchie K., Artero S., and Touchon J., (2001), “Classification criteria for mild cognitive impairment. a population-based validation study”. *Neurology*, 56, 37–72.

- [14] Petersen RC., Koody R., Kurz A., Mohs R., Morris JC., Rabins PV., Ritchie K., Rossor M., Thal L., and Winblad B., (2001), “Current concepts in mild cognitive impairment”. *Arch Neurol*, 58, 1985–1992.
- [15] Klar VA., (1962), “Senescent forgetfulness: Benign and malignant”. *Can Med Assoc J*, 86, 257–260.
- [16] Crook T., Bartus RT., and Ferris SH., (1986), “Age-associated memory impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical change: report of a national institute of mental health work group”. *Dev Neuropsychol*, 2, 261–272.
- [17] Levy R., (1994), “Aging-associated cognitive decline”. *Int Psychogeriatr*, 6, 63–68.
- [18] Petersen RC., Smith GE., Waring SC., Ivnik RJ., Kokmen E., and Tangelos EG., (1997), “Aging, memory, and mild cognitive impairment”. *Int Psychogeriatr*, 9, 65–69.
- [19] Petersen R.C., Smith GE., Waring SC., Ivnik RJ., Tangelos EG., and Kokmen E., (1999), “Mild cognitive impairment. Clinical characterization and outcome”. *Arch. Neurol.*, 56, 303–308.
- [20] Bennet DA., Wilson RS., Schneider JA., Evans DA., Beckett LA., Aggarwal NT., Barnes LL., Fox JH., and Bach J., (2002), “Natural history of mild cognitive impairment in older persons”. *Neurology*, 59, 198–205.
- [21] Ritchie K. and Touchon J., (2000), “Mild cognitive impairment: conceptual basis and current nosological status”. *Lancet*, 355, 225–228.
- [22] Dickerson BC., Salat DH., Bates JF., Atiya M., Killiany RJ., Greve DN., Dale AM., Stern CE., Blacker D., Albert MS., and Sperling RA., (2004), “Medial temporal lobe function and structure in mild cognitive impairment”. *Ann Neurol*, 56, 27–35.
- [23] Dickerson BC., Slat DH., Greve DN., Chua EF., Rand-Giovannetti E., Rentz DM., Bertram L., Mullin K., Tanzi REk., Blacker D., Albert MS., and Sperling RA., (2005), “Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD”. *Neurology*, 65, 404–411.
- [24] Graham JE., Rockwood K., Beattie BL., Eastwood R., Gauthier S., Tuokko H., and McDowell I., (1997), “Prevalence and severity of cognitive impairment with and without dementia in an elderly population”. *Lancet*, 21, 1793–1796.
- [25] Squire LR. and Zola-Morgan S., (1991), “The medial temporal lobe memory system”. *Science*, 253, 1380–1386.
- [26] Bäckman L., Jones S., Berger AK., Laukka EJ., and Small BJ., (2004), “Multiple cognitive deficits during the transition to Alzheimer’s disease”. *J Intern Med.*, 256, 195–204.
- [27] Haist F., Gore JB., and Mao H., (2001), “Consolidation of human memory over decades revealed by functional magnetic resonance imaging”. *Nature Neuroscience*, 4, 1139–1145.
- [28] Rémy F., Mirrashed F., Campbell B., and Richter W., (2005), “Verbal episodic memory impairment in Alzheimer’s disease: a combined structural and functional MRI study”. *Neuroimage*, 25, 253–266.

- [29] Mori E., Yoneda Y., Yamashita H., Hirono N., Ikeda M., and Yamadri A., (1997), “Medial temporal structures relate to memory impairment in Alzheimer’s disease: an MRI volumetric study”. *Journal of Neurology. Neurosurgery and Psychiatry*, 63, 214–221.
- [30] Grundman M. and et al., (2004), “Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials”. *Arch. Neurol.*, 61, 59–66.
- [31] Hsu Y-Y., Schuff N., Du A-T., Mark K., Zhu X., Hardin D., and Weiner MW., (2002), “Comparison of automated and manual MRI volumetry of hippocampus in normal aging and dementia”. *journal of Magnetic Resonance Imaging*, 16, 305–310.
- [32] Kril JJ. and Halliday G., (2004), “Relationship between hippocampal volume and CA1 neuron loss in brains of humans with and without Alzheimer’s disease”. *Neuroscience Letters*, 361, 9–12.
- [33] Johnson SC., Saykin AJ., Baxter LC., Flashman LA., Santulli RB., McAllister TW., and Mamourian AC., (2000), “The relationship between fMRI activation and cerebral atrophy: comparison of normal aging and Alzheimer disease”. *Neuroimage*, 11, 179–187.
- [34] Wahlund LO., Julin P., Johansson SE., and Scheltens P., (2000), “Visual rating and volumetry of the medial temporal lobe on magnetic resonance imaging in dementia: a comparative study”. *J. Neurol. Neursurg. Psychiatry*, 69, 630–635.
- [35] J.L. and Morris J.C., (1999), “Tangles and plaques in nondemented aging and “preclinical” Alzheimer’s disease”. *Ann. Neurol.*, 45, 358–368.
- [36] Arnold S.E., Hyman B.T., Flory J., Damasio A.R., and Van Hoesen G.W., (1991), “The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in the cerebral cortex of patients with Alzheimer’s disease”. *Cereb. Cortex*, 1, 103–116.
- [37] Bobinski M., de Leon M.J., Wegiel J., Desanti S., Convit A., Saint Louis L.A, and et al., (2000), “The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in Alzheimer’s disease”. *Neuroscience*, 95, 721–725.
- [38] Bosscher L. and Scheltens P., (2002), “MRI of the medial temporal lobe for the diagnosis of Alzheimer disease”. *N. Qizilbash, L.S. Schneider, H. Chui, P. Tarriot, H. Brodaty, J. Kaye (Eds.) et al., Evidence-Based Dementia Practice, Blackwell Science, Oxford, United Kingdom*, p. p. II. 4.7.
- [39] Geuze E., Vermetten E., and Bremner J.D., (2005), “Mr-based in vivo hippocampal volumetrics: 1. review of methodologies currently employed”. *Mol Psychiatry*, 10, 147–159.
- [40] Barnes J., J.W. Bartlett J.W., van de Pol L.A., Loy C.T., Scahill R.I., Frost C., and et al., (2008), “A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer’s disease”. *Neurobiol Aging*, 30, 1711–1723.
- [41] Colliot O., Chételat G., Chupin M., Desgranges B., Magnin B., Benali H., and et al., (2008), “Discrimination between Alzheimer disease, mild cognitive impairment, and normal aging by using automated segmentation of the hippocampus”. *Radiology*, 248, 194–201.

- [42] Brewer J.B., Magda S., Airriess C., and Smith M.E., (2009), “Fully-automated quantification of regional brain volumes for improved detection of focal atrophy in Alzheimer disease”. *Am J Neuroradiol*, 30, 578–580.
- [43] Morra J.H., Tu Z., Apostolova L.G., Green A.E., Avedissian C., Madsen S.K., and et al., (2008), “Validation of a fully automated 3D hippocampal segmentation method using subjects with Alzheimer’s disease mild cognitive impairment, and elderly controls”. *Neuroimage*, 43, 59–68.
- [44] Barnes J., Foster J., Boyes R.G., Pepple T., Moore E.K., Schott J.M., and et al., (2008), “A comparison of methods for the automated calculation of volumes and atrophy rates in the hippocampus”. *Neuroimage*, 40, 1655–1671.
- [45] Duchesne S., Pruessner J., and Collins D.L., (2002), “Appearance-based segmentation of medial temporal lobe structures”. *Neuroimage*, 17, 515–531.
- [46] Frisoni GB and Jack CR., (2011), “Harmonization of magnetic resonance-based manual hippocampal segmentation: a mandatory step for wide clinical use”. *Alzheimers Dement*, 7(2), 171–174.
- [47] Boccardi M., Ganzola R., Bocchetta M., Pievani M., Redolfi A., Bartzokis G., Camicioli R., Csernansky J., de Leone MJ., deToledo Morrell L., Killiany R.J., Lehericy S., Pantel J., Pruessner J.C., Soininen H., Watson C., Duchesne S., Jack CR Jr., and Frisoni GB., (2011), “Survey of protocols for the manual segmentation of the hippocampus: Preparatory steps towards a joint EADC-ADNI Harmonized Protocol”. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 26, 61–75.
- [48] Killiany R.J., Moss MB., Albert MS., Sandor T., Tieman J., and Jolesz F., (1993), “Temporal lobe regions on magnetic resonance imaging identify patients with early Alzheimer’s disease”. *Arch Neurol*, 50, 949–954.
- [49] Convit A., De Leon MJ., Tarshish C., De Santi S., Tsui W., Rusinek H., and George A., 1997, “Specific hippocampal volume reductions in individuals at risk for Alzheimer’s disease”. *Neurobiol Aging*, 18, 131–138.
- [50] Watson C. and et al., (1992), “Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging”. *Neurology*, 42(9), 1743–1750.
- [51] Soininen HS., Partanen K., Pitkanen A., Vainio P., Hallikainen M. Hanninen T. and, Koivisto K., and Riekkinen PJS., (1994), “Volumetric MRI analysis of the amygdala and the hippocampus in subjects with age-associated memory impairment: correlation to visual and verbal memory”. *Neurology*, 44, 1660–1668.
- [52] Csernansky J.G., Wang L., Swank J., Miller J.P. McKeel D., and et al., (2005), “Preclinical detection of Alzheimer’s disease: hippocampal shape and volume predict dementia onset in the elderly”. *Neuroimage*, 25(3), 783–792.
- [53] Johansson BB., (2004), “Brain plasticity in health and disease”. *Keio J Med*, 53, 231–246.
- [54] Pascual-Leone AA., Amedi A., Fregni F., and Merabet LB., (2005), “The plastic human brain cortex”. *Annu Rev Neurosci*, 28, 377–401.

- [55] Draganska B. and Mayb A., (2008), "Training-induced structural changes in the adult human brain". *Behavioural Brain Research*, 192, 137–142.
- [56] Ramón y Cajal Santiago, (1897-1904), *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y de los Vertebrados*, vol. I-III, Madrid; N. Moya.
- [57] Buonomano DV. and Merzenich MM., (1998), "Cortical plasticity: from synapses to maps". *Annu Rev Neurosci*, 21, 149–186.
- [58] Feldman DE., Nicoll RA., and Malenkam RC., (1999), "Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD, and silent synapses". *J Neurobiol*, 41, 92–101.
- [59] Luscher C., Nicoll RA., Malenka RC., and Muller D., (2000), "Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane". *Nat Neurosci*, 3, 545–550.
- [60] Lewis CM., Baldassarre A., Committeri G., Romani GL., and Corbetta M., (2009), "Learning sculpts the spontaneous activity of the resting human brain". *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, no. 41, 17558–17563.
- [61] Albert NB., Robertson EM., and Miall RC., (2009), "The resting human brain and motor learning". *Curr Biol*, 19, no. 12, 1023–1027.
- [62] Takeuchi H., Taki Y., Hashizume H., Sassa Y., Nagase T., Nouchi R., and Kawashima R., (2011), "Effects of training of processing speed on neural systems". *The journal of Neuroscience*, 31, no. 34, 12139–12148.
- [63] Ma L., Narayana S., Robin DA., Fox PT., and Xiong J., (2011), "Changes occur in resting state network of motor system during 4 weeks of motor skill learning". *NeuroImage*, 58, 226–233.
- [64] Taubert M., Lohmann G., Margulies DS., Villringer A., and Ragert P., (2011), "Long-term effects of motor training on resting-state networks and underlying brain structure". *NeuroImage*, 57, 1492–1498.
- [65] Finger S., (1994), *The Origins of Neuroscience: A History of Explorations into Brain Function*, Oxford University Press: New York.
- [66] Lee L., Harrison LM., and Mechelli A., (2003), "A report of the functional connectivity workshop". *Neuroimage*, 19, 457–465.
- [67] Mesulam M., (1990), "Large-scale neurocognitive networks and distributed processing for attention, language, and memory". *Ann. Neurol.*, 8, 597–618.
- [68] Huettel S.A., Song A.W., and McCarthy G., (2004), "Functional magnetic resonance imaging". *Sunderland, M.A.: Sinauer Associates, Publishers*.
- [69] Donders F.C., (1868-1969), "On the speed of mental processes". English translation in W.G. Koster. Attention and performance. Amsterdam: North-Holland, vol. 11 pp 412-431, Original published in *Onderzoekingen gedaan in het Physiologisch Laboratorium der Utrechtsche Hoogeschool*, Tweede reeks, 1868-1869, 11, 92-120.

- [70] Friston K.J., Ashburner J.T., Kiebel S., Nichols T., and Penny W.D., Eds., 2007, *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*, Elsevier.
- [71] Amaro E.Jr. and Barker G.J., (2006), "Study design in fMRI: Basic principles". *Brain and Cognition*, 60, 220–232.
- [72] Amaro E. Jr. and Barker G.J., 2006, "Study design in fmri: Basic principles". *brain and cognition*, 60, 220–232.
- [73] Bandettini P.A. and Cox R.W., (2000), "Event-related fMRI contrast when using constant interstimulus interval: Theory and experiment". *Magnetic Resonance in Medicine*, 43, 540–548.
- [74] Dales A.M., (1999), "Optimal experimental design for event-related fMRI". *Human Brain Mapping*, 8, 109–114.
- [75] Friston K.J., Zarahn E., Josephs O., Henson R.N.A., and Dale A.M., (1999), "Stochastic designs in event-related fMRI". *Neuroimage*, 10, 607–619.
- [76] Birn R.M., Cox R.W., and Bandettini P.A., (2002), "Detection versus estimation in event-related fMRI: Choosing the optimal stimulus timing". *Neuroimage*, 15, 252–264.
- [77] Liu T.T., Frank L.R., Wong E.C., and Buxton R.B., (2001), "Detection power, estimation efficiency and predictability in event-related fMRI". *Neuroimage*, 13, 759–773.
- [78] Liu T.T. and Frank L.R., (2004), "Efficiency, power, and entropy in event-related fMRI with multiple trial types-part I: Theory". *Neuroimage*, 21, 387–400.
- [79] Visscher K.M., Miezin F.M., Kelly J.E., Buckner R.L., Donalson D.I., McAvoy M.P., Bhandolia V.M., and Petersen S.E., (2003), "Mixed block/event-related designs separate transient and sustained activity in fMRI". *Neuroimage*, 19, 1694–1708.
- [80] Hall D.A., Haggard M.P., Akeroyd M.A., Palmer A.R., AQ. Summerfield, Elliott M.R., Gurney E.M., and Bowtell R.W., (1999), "'Sparse' temporal sampling in auditory fMRI". *Hum Brain Mapp.*, 7, 213–223.
- [81] Hajnal J.V., Myers R., Oatridge A., Schwieso J.E., Young I.R., and Bydder G.M., (1994), "Artifacts due to stimulus correlated motion in functional imaging of the brain". *Magn Reson Med.*, 31, 283–291.
- [82] Hajnal J.V., Bydder G.M., and Young I.R., (1995), "fMRI: does correlation imply activation?". *NMR Biomed.*, 8, 97–100.
- [83] Smith S.M., (2001), "Preparing fMRI data for statistical analysis.". in *In Functional MRI: An Introduction to Methods*, Jezzard P., Matthews P.M., and Smith S.M., Eds. Oxford: Oxford University Press.
- [84] Talairach J. and Tournoux P., (1988), "Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-Dimensional proportional system - an approach to cerebral imaging". *Thieme Medical Publishers, New York, NY*.



- [85] Friston K. J., Holmes A.P., Worsley K.J., Poline J.B., Frith C.D., and Frackowiak R.S.J., (1995), “Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach”. *Human Brain Mapping*, 2, 189–210.
- [86] Worsley K.J. and Friston K.J., (1995), “Analysis of fMRI time-series revisited -again”. *NeuroImage*, 2, 173–181.
- [87] Friston K.J., Frith C.D., Turner R., and Frackowiak R.S., (1995), “Characterizing evoked hemodynamics with fMRI”. *Neuroimage*, 2, 157–165.
- [88] Friston K.J., Jezzard P.J., and Turner R., (1994), “Analysis of functional MRI time-series”. *Hum Brain Mapp*, 1, 153–71.
- [89] Boynton G.M., Engel S.A., Glover G.H., and et al., (1996), “Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1”. *J. Neurosci.*, 16, 4207–4221.
- [90] Biswal B., Yetkin F.Z., Haughton V.M., and Hyde J.S., (1995), “Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI”. *Magn Reson Med*, 34, 537–541.
- [91] Raichle M.E. and Mintun M.A., (2006), “Brain work and brain imaging”. *Annu Rev Neurosci*, 29, 449–476.
- [92] Biswal B., Van Kylen J., and Hyde J.S., (1997), “Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps”. *NMR Biomed*, 10, 165–170.
- [93] Lowe M.J., Mock B.J., and Sorenson J.A., (1998), “Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations”. *Neuroimage*, 7, 119–132.
- [94] Greicius M.D., Krasnow B., Reiss A.L., and Menon V., (2003), “Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis”. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100, 253–258.
- [95] Damoiseaux J.S., Rombouts S.A., Barkhof F., Scheltens P., Stam C.J., Smith S.M., and Beckmann C.F., (2006), “Consistent resting-state networks across healthy subjects”. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 13848–13853.
- [96] Margulies D.S., Kelly A.M., Uddin L.Q., Biswal B.B., Castellanos F.X., and Milham M.P., (2007), “Mapping the functional connectivity of anterior cingulate cortex”. *NeuroImage*, 37, 579–588.
- [97] Fox M.D. and Raichle M.E., (2007), “Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging”. *Nat Rev Neurosci*, 8, 700–711.
- [98] Smith K., (2012), “Idle minds”. *Nature*, 489, 356–358.
- [99] Kiviniemi V., Kantola J.H., Jauhiainen J., Hyvärinen A., and Tervonen O., (2003), “Independent component analysis of nondeterministic fMRI signal sources”. *Neuroimage*, 19, 253–260.
- [100] Fox M.D., Zhang D., Snyder A.Z., and Raichle M.E., (2009), “The global signal and observed anticorrelated resting state brain networks”. *journal of Neurophysiology*, 101, 3270–3283.

- [101] Murphy K., Birn RM., DA. Handwerker, Jones TB., and Bandettini PA., (2009), “The impact of global signal regression on resting state correlations: are anticorrelated networks introduced?”. *Neuroimage*, 44, 893–905.
- [102] Press WH., Teukolsky SA., Vetterling WT., and Flannery BP., (1992), *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*, Cambridge University Press.
- [103] McKeown MJ., Makeig S., Brown GG., Jung TP., Kindermann SS., Bell AJ., and Sejnowski TJ., (1998), “Analysis of fMRI data by blind separation into independent spatial components”. *Hum Brain Mapp*, 6, 160–188.
- [104] Calhoun VD., Adali T., Pekar JJ., and Pearlson GD., (2003), “Latency (in) sensitive ICA. group independent component analysis of fMRI data in the temporal frequency domain”. *Neuroimage*, 20, 1661–1669.
- [105] McKeown MJ., Hansen LK., and Sejnowski TJ., (2003), “Independent component analysis of functional MRI: what is signal and what is noise?”. *Current Opinion in Neurobiology*, 2, 620–629.
- [106] Shehzad Z., Kelly AM., Reiss PT., Gee DG., Gotimer K., Uddin LQ., Lee SH., Margulies DS., Roy AK., Biswal BB., Petkova E., Castellanos FX., and Milham MP., (2009), “The resting brain: unconstrained yet reliable”. *Cereb Cortex*, 19, 2209–2229.
- [107] Beckmann CF., DeLuca M., Devlin JT., and Smith SM., (2005), “Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis”. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 360, 1001–1013.
- [108] Ylipaavalniemi J. and Vigário R., (2008), “Analyzing consistency of independent components: An fMRI illustration”. *NeuroImage*, 39, no. 1, 169–180.
- [109] Norman KA., Polyn SM., Detre GJ., and Haxby JV., (2006), “Beyond mind-reading: multi-voxel pattern analysis of fMRI data”. *Trends Cogn Sci*, 10, 424–430.
- [110] Haynes JD. and Rees G., (2006), “Decoding mental states from brain activity in humans”. *Nat Rev Neurosci*, 7, 523–534.
- [111] Bullmore E. and Sporns O., (2009), “Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems”. *Nat Rev Neurosci*, 10, 186–198.
- [112] Buckner RL., Sepulcre J., Talukdar T., Krienen FM., Liu H., Hedden T., Andrews-Hanna JR., Sperling RA., and Johnson KA., (2009), “Cortical hubs revealed by intrinsic functional connectivity: mapping, assessment of stability, and relation to Alzheimer’s disease”. *J Neurosci*, 29, 1860–1873.
- [113] Reka A. Barabási, (2002), “Statistical mechanics of complex networks”. *Rev Mod Phys*, 74, 47–97.
- [114] Latora V. and Marchiori M., (2001), “Efficient behavior of small-world networks”. *Phys Rev Lett*, 87, 198701.

- [115] Wang J., Wang L., Zang Y., Yang H., Tang H., Gong Q., Chen Z., Zhu C., and He Y., (2009), “Parcellation-dependent small-world brain functional networks: a resting-state fMRI study”. *Hum Brain Mapp*, 30, 1511–1523.
- [116] Stam CJ. and Reijneveld JC., (2007), “Graph theoretical analysis of complex networks in the brain”. *Nonlinear Biomed Phys*, 1:3.
- [117] Achard S. and Bullmore E., (2007), “Efficiency and cost of economical brain functional networks”. *PLoS Comput Biol*, 3, e17.
- [118] He Y., Wang J., Wang L., Chen ZJ., Yan C., Yang H., Tang H., Zhu C., Gong Q., Zang Y., and Evans AC., (2009), “Uncovering intrinsic modular organization of spontaneous brain activity in humans”. *PLoS ONE*, 4, e5226.
- [119] Shen X., Papademetris X., and Constable RT., (2010), “Graph-theory based parcellation of functional subunits in the brain from resting-state fMRI data”. *Neuroimage*, 50, 1027–1035.
- [120] Newman MEJ., (2006), “Modularity and community structure in networks”. *Proc Natl Acad Sci*, 103, 8577–8582.
- [121] Bassett DS. and Bullmore E., (2006), “Small-world brain networks”. *Neuroscientist*, 12, 512–523.
- [122] Kendall M. and Gibbons J.D., (1990), *Rank Correlation Methods*, Oxford Univ. Press, Oxford.
- [123] Zang Y., Jiang T., Lu Y., He Y., and Tian L., (2004), “Regional homogeneity approach to fMRI data analysis”. *Neuroimage*, 22, 394–400.
- [124] Zang YF., He Y., Zhu CZ., Cao QJ., Sui MQ., Liang M., Tian LX., Jiang TZ., and Wang YF., (2007), “Altered baseline brain activity in children with ADHD revealed by resting-state functional MRI”. *Brain Dev*, 29, 83–91.
- [125] Zou Q.H., Zhu C.Z., Yang Y., Zuo X.N., Long X.Y., Cao Q.J., Wang Y.F., and Zang Y.F., (2008), “An improved approach to detection of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) for resting-state fMRI: fractional ALFF”. *J.Neurosci. Methods*, 172, 137–141.
- [126] Zuo X. N., Di Martino A., Kelly C., Shehzad Z. E., Gee D. G., Klein D. F., Castellanos F. X., Biswal B. B., and Milham M. P., (2010), “The oscillating brain: complex and reliable”. *Neuroimage*, 49, 1432–1445.
- [127] Taylor PA., Gohel S., Di X., Walter M., and Biswal BB., (2012), “Functional covariance networks: obtaining resting-state networks from intersubject variability”. *Brain Connect*, 2, 203–217.
- [128] Ciuciu P., Varoquaux G., Abry P., Sadaghiani S., and Kleinschmidt A., (2012), “Scale-free and multifractal time dynamics of fMRI signals during rest and task”. *Front Physiol.*, 3, 186.
- [129] Hahn T., Dresler T., Ehlis AC., Pyka M., Dieler AC., Saathoff C., Jakob PM., Lesch KP., and Fallgatter AJ., (2011), “Randomness of resting-state brain oscillations encodes gray’s personality trait”. *Neuroimage*, 59, 1842–1845.

- [130] Lai MC., Lombardo MV., Chakrabarti B., Sadek SA., Pasco G., Wheelwright SJ., Bullmore ET., Baron-Cohen S. MRC AIMS Consortium, and J. Suckling, (2010), “A shift to randomness of brain oscillations in people with autism”. *Biol Psychiatry*, 68, no. 12, 1092–1099.
- [131] Kiviniemi V., Remes J., Starck T., Nikkinen J., Haapea M., Silven O., and Tervonen O., (2009), “Mapping transient hyperventilation induced alterations with estimates of the multi-scale dynamics of BOLD signal”. *Front Neuroinform*, 3, 18.
- [132] Wink AM., Bullmore E., Barnes A., Bernard F., and Suckling J., (2008), “Monofractal and multifractal dynamics of low frequency endogenous brain oscillations in functional MRI”. *Hum Brain Mapp.*, 29, 791–801.
- [133] Suckling J., Ohlssen D., Andrew C., Johnson G., Williams SC., Graves M., Chen CH., Spiegelhalter D., and Bullmore E., (2008), “Components of variance in a multicentre functional MRI study and implications for calculation of statistical power”. *Hum Brain Mapp.*, 29, 1111–1122.
- [134] Maxim V., Sendur L., Fadili J., Suckling J., Gould R., Howard R., and Bullmore E., (2005), “Fractional gaussian noise, functional MRI and Alzheimer’s disease”. *Neuroimage*, 25, 141–158.
- [135] Jutten C. and Héroult J., (1991), “Blind separation of sources, part I: An adaptive algorithm based on neuromimetic architecture”. *Signal Processing*, 24, 1–10.
- [136] Comon P., (1994), “Independent component analysis—a new concept?”. *Signal Processing*, 36, 287–314.
- [137] Hyvärinen A., (1998a), “Independent component analysis in the presence of gaussian noise by maximizing joint likelihood”. *Neurocomputing*, 22, 49–67.
- [138] Hyvärinen A., (1999), “Gaussian moments for noisy independent component analysis”. *IEEE Signal Processing Letters*, 6(6), 145–147.
- [139] Hyvärinen A. and Oja E., (2000), “Independent component analysis: Algorithms and applications”. *Neural Networks*, 13, no. (4-5), 411–430.
- [140] Cover T.M. and Thomas J.A., (1991), *Elements of Information Theory*, Wiley.
- [141] Papoulis A., (1991), *Probability, Random Variables, and Stochastic Processes*, McGraw-Hill, 3rd edition.
- [142] Hyvärinen A., (1999), “Survey on independent component analysis”. *Neural Computing Surveys*, 2, 94–128.
- [143] Jones M. and Sibson R., (1987), “What is projection pursuit?”. *J. of the Royal Statistical Society, Ser.A.*, 150, 1–36.
- [144] Hyvärinen A., (1998), “New approximations of differential entropy for independent component analysis and projection pursuit”. *Advances in Neural Information Processing Systems*, 10, 273–279.

- [145] Pham D. T., Garrat P., and Jutten C., (1992), “Separation of a mixture of independent sources through a maximum likelihood approach”. *Proc. EUSIPCO*, 771–774.
- [146] Hyvärinen A., (1999), “Sparse code shrinkage: Denoising of nongaussian data by maximum likelihood estimation”. *Neural Computation*, 11(7), 1739–1768.
- [147] Hyvärinen A. and Oja E., (1997), “A fast fixed-point algorithm for independent component analysis”. *Neural Computation*, 9(7), 1483–1492.
- [148] Hyvärinen A., (1999), “Fast and Robust Fixed-Point Algorithms for Independent Component Analysis”. *IEEE Transactions on Neural Networks*, 10(3), 626–634.
- [149] Bell A.J. and Sejnowski T.J., (1995), “An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution”. *Neural Computation*, 7, 1129–1159.
- [150] Calhoun V.D., Adali T., McGinty V.B., Pekar J.J., Watson T.D., and Pearlson G.D., (2001), “fMRI activation in a visual-perception task: network of areas detected using the general linear model and independent components analysis”. *Neuroimage*, 14, 1080–1088.
- [151] Ferraty F. and Vieu P., (2006), *Nonparametric Functional Data Analysis: Theory and Practice*, Springer.
- [152] Craven P. and Wahba G., (1979), “Smoothing noisy data with spline functions: estimating the correct degree of smoothing by the method of generalized cross-validation”. *Numerische Mathematik*, 31, 377–403.
- [153] Hastie T., Buja A., and Tibshirani R., (1995), “Penalized discriminant analysis”. *Annals of Statistics*, 23, 73–102.
- [154] Glendinning R. H. and Fleet S. L., (2004), “Classifying non-uniformly sampled vector-valued curves”. *Pattern Recognition*, 37, 1999–2008.
- [155] Anderson C. W., Stolz E. A., and Shamsunder S., (1998), “Multivariate auto-regressive models for classification of spontaneous electroencephalographic signal during mental task”. *IEEE Transactions on biomedical Engineering*, 45, 277–286.
- [156] Marx B. and Eilers P., (1999), “Generalized linear regression on sampled signals and curves: a P-spline approach”. *Technometrics*, 41, 1–13.
- [157] Ferraty F. and Vieu P., (2003), “Curves discrimination: a nonparametric functional approach”. *Computational Statistics and Data Analysis*, 44, 161–173.
- [158] James G. and Hastie T., (2001), “Functional linear discriminant analysis for irregularly sampled curves”. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 533–550.
- [159] Rossi F. and Conan-Guez B., (2005), “Functional multi-layer perceptron: a nonlinear tool for functional data analysis”. *Neural Networks*, 18, 45–60.
- [160] Conan-Guez B. and Rossi F., (2004), “Phoneme discrimination with functional multilayer perceptron”. *Classification, Clustering, and Data Mining Applications (Proceedings of IFCS 2004)*, 157–165.

- [161] Rossi F., Delannay N., Conan-Guez B., and Verleysen M., (2005), “Representation of functional data in neural networks”. *Neurocomputing*, 64, 183–210.
- [162] James G. M. and Silverman B., (2005), “Functional adaptive model estimation”. *Journal of the American Statistical Association*, 565–576.
- [163] James G. M., (2002), “Generalized linear models with functional predictor variables”. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 411–432.
- [164] Biau G., Bunea F., and Wegkamp M., (2005), “Functional classification in Hilbert spaces”. *IEEE Transactions on Information Theory*, 51, 2163–2172.
- [165] Berline A., Biau G., and Rouvière L., (2008), “Functional supervised classification with wavelets”. *Annales de l’ISUP, in press*.
- [166] Fromont M. and Tuleau C., (2006), “Functional classification with margin conditions”. *Proceedings of the 19th Annual Conference on Learning Theory (COLT’06)*, 94–108.
- [167] Rossi F. and Villa N., (2006), “Support vector machine for functional data classification”. *Neurocomputing*, 69, 730–742.
- [168] Ferré L. and Villa N., (2005), “Discrimination de courbes par régression inverse fonctionnelle”. *Revue de Statistique Appliquée*, LIII, 39–57.
- [169] Ferré L. and Villa N., (2006), “Multilayer perceptron with functional inputs: an inverse regression approach”. *Scandinavian journal of Statistics*, 33, 807–823.
- [170] López-Pintado S. and Romo J., (2006), “Depth-based classification for functional data”. *DIMACS Series in Discrete Mathematics and Theoretical Computer Science*, 72, 103–120.
- [171] Petersen R.C., (2004), “Mild cognitive impairment as a diagnostic entity”. *J. Intern. Med.*, 256, 183–194.
- [172] Jack CR. Jr., Petersen RC., Xu YC., O’Brien PC., and et al., (1999), “Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment”. *Neurology*, 52, 1397–1403.
- [173] Mungas D. and et al., (2001), “MRI predictors of cognition in subcortical ischemic vascular disease and Alzheimer’s disease”. *Neurology*, 57, 2229–2235.
- [174] Kindratenko VV., (2003), “On using functions to describe the shape”. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 18, 225–245.
- [175] Stoyan D. and Stoyan H., (1994), *Fractals, Random Shapes and Point Fields*, Methods of Geometrical Statistics, wiley edition.
- [176] Epifanio I., (2008), “Shape descriptors for classification of functional data”. *Technometrics*, 50, no. 3.
- [177] Styner M., Gerig G., Joshi SC., and Pizer SM., (2003), “Automatic and robust computation of 3D medial models incorporating object variability”. *International Journal of Computer Vision*, 55, no. 2-3, 107–122.

- [178] Golland P., Grimson WEL., Shenton ME., and Kikinis R., (2001), “Deformation analysis for shape based classification”. in *Proceedings of the 17th International Conference on Information Processing in Medical Imaging*, IPMI '01, 517–530.
- [179] Joshi SC., Miller MI., and Grenander U., (1997), “On the geometry and shape of brain sub-manifolds”. *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence*, 11, no. 8, 1317–1343.
- [180] Park Y., Priebe CE., Miller MI., Mohan NR., and Botteron KN., 2008, “Statistical analysis of twin populations using dissimilarity measurements in hippocampus shape space”. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, (2008), no. Article ID 694297, doi:10.1155/2008/694297, 5 pages.
- [181] Shen K., Fripp J., Meriaudeau F., Chetelat G., Salvado O., and Bourgeat P., (2012), “Detecting global and local hippocampal shape changes in Alzheimer’s disease using statistical shape models”. *NeuroImage*, 59, no. 3, 2155–2166.
- [182] Gerig G., Styner M., Jones D., Weinberger D., and Lieberman J., (2001), “Shape analysis of brain ventricles using SPHARM”. in *Proceedings of the IEEE Workshop on Mathematical Methods in Biomedical Image Analysis (MMBIA'01)*, 171–178.
- [183] Gu X., Wang Y., Chan TF., Thompson PM., and Yau S., (2004), “Genus zero surface conformal mapping and its application to brain surface mapping”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 23, no. 8, 949–958.
- [184] Shen L., Ford J., Makedon F., and Saykin A., (2004), “A surface-based approach for classification of 3D neuroanatomic structures”. *Intelligent Data Analysis*, 8, no. 6, 519–542.
- [185] Chung M.K., Dalton K. M., Shen L., Evans A. C., and Davidson R. J., (2007), “Weighted fourier series representation and its application to quantifying the amount of gray matter”. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 26, no. 4, 566–581.
- [186] Shen L., Farid H., and McPeck M.A., (2009), “Modeling 3-dimensional morphological structures using spherical harmonics”. *Evolution*, 4, no. 63, 1003–1016.
- [187] Gerardin E., Chetelat G., Chupin M. and Cuingnet R., Desgranges B., Kim H., Niethammer M. and Dubois B., Lehericy S., Garnero L., and Eustache F. and Colliot O., (2009), “Multidimensional classification of hippocampal shape features discriminates Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment from normal aging”. *NeuroImage*, 47, no. 4, 1476–1486.
- [188] Chung M.K., Worsley K. J., Nacewicz B. M., Dalton K. M., and Davidson R. J., (2010), “General multivariate linear modeling of surface shapes using SurfStat”. *NeuroImage*, 53, no. 2, 491–505.
- [189] Wang L. and et al., (2003), “Changes in hippocampal volume and shape across time distinguish dementia of the Alzheimer type from healthy aging”. *Neuroimage*, 20, 667–682.
- [190] Apostolova LG., Dutton RA., Dinov ID., Hayashi KM., Toga AW., Cummings JL., and Thompson PM., (2006), “Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps”. *Arch Neurol.*, 63(5), 693–699.

- [191] Costafreda SG., Dinov ID., Tu Z., Shi Y., Liu CY., Kloszewska I., Mecocci P., Soininen H., Tsolaki M., Vellas B., Wahlund LO., Spenger C., Toga AW., Lovestone S., and Simmons A., (2011), “Automated hippocampal shape analysis predicts the onset of dementia in mild cognitive impairment”. *Neuroimage*, 56(1), 212–219.
- [192] N. Golestani and R.J. Zatorre, (2004), “Learning new sounds of speech: reallocation of neural substrates”. *NeuroImage*, 21, 494–506.
- [193] Hyvärinen A., (1999), “The Fixed-Point Algorithm and Maximum Likelihood Estimation for Independent Component Analysis”. *Neural Processing Letters*, 10(1), 1–5.
- [194] Hyvärinen A. and Oja E., (1998), “Independent component analysis by general nonlinear Hebbian-like learning rules”. *Signal Processing*, 64(3), 301–313.
- [195] Hyvärinen A. and et al., (2001), *Independent Component Analysis*, Wiley.
- [196] Luenberger D., (1969), *Optimization by Vector Space Methods*, Wiley.
- [197] Ramsay J. O. and Wickham H., (2007), *fda: Functional Data Analysis*, URL <http://www.functionaldata.org>.
- [198] Styner M. and et al., (2003), “Boundary and medial shape analysis of the hippocampus in schizophrenia”. *Medical Image Analysis journal*, 8(3), 197–203.
- [199] Hasbound D. and et al., (1996), “Determination of hippocampal volume: Comparison of three methods”. *AJNR Am J. Neuroradiol*, 17, 1091–1098.
- [200] CM. Bottino and et al., (2002), “Volumetric MRI measurements can differentiate Alzheimer’s disease, mild cognitive impairment, and normal aging”. *Int. Psychogeriatry*, 14, 59–72.
- [201] Pennanen C., Kivipelto M., Tuomainen S., Hartikainen T., and et al., (2004), “Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD”. *Neurobiol of Aging*, 25, 303–310.
- [202] Ventura N. and Epifanio I., (2008), “Multivariate functional data discrimination using ICA: analysis of hippocampal differences in Alzheimer’s disease”. in *Functional and Operatorial Statistics*, S. Dabo-Niang and F. Ferraty, Eds. Contributions to Statistics, 157–163, Springer.
- [203] Cajal SR, (1909), “Histologie du système nerveux de l’homme et des vertèbres”. *Paris Maloine*.
- [204] Lohmann G., Margulies DS., Horstmann A., Pleger B., Lepsien J., Goldhahn D., Schloegl H., Stumvoll M., Villringer A., and Turner R., (2010), “Eigenvector centrality mapping for analyzing connectivity patterns in fmri data of the human brain”. *PLoS One*, 5, e10232.