



# Influencia de la reserva cognitiva en la estructura y funcionalidad cerebral en el envejecimiento sano y patológico

Beatriz Bosch Capdevila

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# **Influencia de la reserva cognitiva en la estructura y funcionalidad cerebral en el envejecimiento sano y patológico.**

Tesis presentada por

Beatriz Bosch Capdevila

Para obtener el grado de Doctor por la Universitat de Barcelona

**Directores:**

**Dr. David Bartrés-Faz, Universitat de Barcelona**

**Dr. José Luís Molinuevo Guix, Hospital Clínic de Barcelona**



**Programa de Doctorado de Medicina**

**Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica**

**Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona**

**Barcelona, noviembre 2010**



El Dr. DAVID BARTRÉS FAZ, Profesor Agregat del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica de la Universitat de Barcelona, y el Dr. JOSÉ LUIS MOLINUEVO GUIX, Coordinador de la Unidad de Alzheimer y otros trastornos cognitivos del Servicio de Neurología del Hospital Clínic de Barcelona declaran que han supervisado la tesis doctoral “Influencia de la reserva cognitiva en la estructura y funcionalidad cerebral en el envejecimiento sano y patológico”, presentada por Beatriz Bosch Capdevila. Igualmente, declaran que esta tesis cumple los requisitos necesarios para ser defendida ante el Tribunal de evaluación correspondiente para optar al grado de Doctor por la Universitat de Barcelona.

Firmado,

**Dr. David Bartrés-Faz**

**Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica**

**Facultat de Medicina**

**Universitat de Barcelona**

**Dr. José Luis Molinuevo Guix**

**Unitat d'Alzheimer i altres Trastorns Cognitius**

**Servei de Neurologia**

**Hospital Clínic i Provincial de Barcelona**

**Barcelona, noviembre de 2010**

Este trabajo fue financiado por el Ministerio español de Educación y Ciencia con la adjudicación de proyectos de investigación (SAF2007-66270 y SAF2009-07489) al Dr. Bartrés-Faz junto con la financiación de la Generalitat de Catalunya para el Grupo de Investigación de Neuropsicología (2005SGR00855) y de una beca de investigación de Pfizer-Eisai.

## AGRADECIMIENTOS

*Als meus pares,*

*La Marta i el David*

*I molt especialment a la Bea, a la Lydia i al meu avi Josep: sé que us hagués agradat poder veure el final!*

*És difícil trobar paraules d'agraïment per expressar tot el suport que he rebut durant l'elaboració de la tesis. Sé que no podré descriure amb poques ratlles l'agraïment que m'agradaria transmetre a totes aquelles persones que n'heu format part, i m'heu acompanyat en aquest viatge!*

*En primer lloc als meus directors de tesis, al Dr. Bartrés i al Dr. Molinuevo.,*

*David, gràcies per introduir-me al món de la neuroimatge i la neurociència i per donar-me la oportunitat de poder descobrir aquest meravellós món. Gràcies per haver confiat en mí.*

*José Luís, gracias por ayudarme siempre a "ver con claridad", a hacer fácil el día a día y todos los retos que en estos años se han ido planteando, por las oportunidades, tu apoyo y por toda la confianza que has depositado en mí.*

*La meva gratitud molt especialment a la Eider i la Roser sense les que aquest treball no hagués estat possible. Moltes gràcies!*

*El meu agraïment també a tot l'equip de la Unitat d'Alzheimer i altres trastorns cognitius, del Servei de Neurologia de l'Hospital Clínic de Barcelona, amb el que tinc el privilegi de compartir l'estimulant i gratificant treball del dia a dia. A tots, 'als d'ara i als de abans': José Luís, Raquel (por tus empujones silenciosos que me dan fuerza para afrontar nuevos retos...), Albert (per les frases cèlebres que tant ens fan pensar...), Lorena (per ensenyar-me a estimar la neuropsicologia), Anna (pel teu recolzament), Juan (por tú entusiasmo pegadizo por la investigación), Mircea (por tus ideas claras, comentarios y risas), Rosa M<sup>a</sup> (per haver aportat tanta energia la unitat), Cristina (per les converses i treball compartit), Jaume (per la contància), Magda (per la teva disposició), Amparo, Sofia, Glòria, Claudia, Vicente...per tot el què hem passat junts..., Guada (por seguir estando siempre) i a la Mònica (per ser una incondicional!). Així com a tots els companys del Servei!*

*A tot l'equip del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica de la Universitat de Barcelona. A la Carme i al Pere per donar-me la oportunitat de desenvolupar aquest treball en un equip tant excepcional! ...i com no... als companys immillorables del Departament: a tots els que vem començar el viatge junts, i als que us hi heu anat afegint...Carme i Pere, David, Sara (per la teva manera de fer!), Giusi (por compartir conmigo todos los bailes), Naroa (por nuestra miopía compartida y por tu dosis de humor y energía diaria), Davinia (por buscar siempre la manera de hacerlo más fácil y por prestarme 'tu tarea', que tantas vueltas le hemos dado!), Bàrbara (per la confiança, 'carinyo' i amistat), Dídac (perquè sense fer soroll...sempre hi ets!), Joana (por compartir horas de verano en el labo), Silvia (por tu manera de ver las cosas), Núria (per les hores de doctorat juntes), Cleo, Hugo, Leyre, Júlia, Inma Clemente, Xavi, Pep, Natalia, Rocío.....a tots!. Gràcies també a tu, Pilar, per fer que els tràmits siguin més lleugers!*

*Així com també al servei de Neuroradiologia: La Núria, el Cèsar, el Manel, l'Alicia i especialment al Carles.*

*I als tots els amics i amigues ... menció especial mereixen tots els petits i petites, de les diferents colles, que han arribat durant els últims anys!!! Especialment al meu Fillol!*

*Als meus pares, per fer-me ser com sóc i ser ells un referent envejable!, a la Marta...per fer-me veure la part divertida de les coses, per la seva manera de ser!...A la meva àvia... tiets, cosins i 'cunyat'!*

*Al David, per la paciència infinita que has tingut sempre! Aquest 'esperit maratonianà' de nou ens ha portat a acabar junts una altra cursa!*

*A tots i totes els que incondicionalment m'heu animat a seguir endavant. A tots els que heu estat al meu costat!*

*Finalment, un reconeixement molt especial per tots els pacients i familiars que amb la seva confiança ens permeten seguir avançant en el coneixement de l'envelliment i les demències.*

*Gràcies a tots per ser-hi sempre!*

*Bea*



**INDICE:**

Prólogo .....	11
Glosario de abreviaturas .....	13
1.- INTRODUCCIÓN.....	17
1.1.- Envejecimiento sano .....	19
1.1.1.- Características neuroanatómicas del envejecimiento normal .....	19
1.1.2.- Características cognitivas del envejecimiento sano .....	22
1.1.3.- Características funcionales del envejecimiento sano .....	23
1.2.- Envejecimiento patológico.....	24
1.2.1.- Deterioro cognitivo leve.....	24
1.2.2.- Enfermedad de Alzheimer .....	26
1.2.3.- Neuroimagen estructural en deterioro cognitivo leve y estadios iniciales de la EA.....	27
Estudios volumétricos de la sustancia gris.....	27
Estudios de sustancia blanca y RM de difusión.....	29
1.2.4.- Neuroimagen funcional en deterioro cognitivo leve y estadios iniciales de la EA.....	31
Estudios en reposo .....	31
Estudios de activación .....	32
1.3.- Reserva cognitiva, estructura y función cerebral en envejecimiento sano y patológico.....	36
2.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	43
3.- MÉTODO.....	47
3.1.- Muestra .....	48
3.2.-Evaluación clínica y neuropsicológica .....	51
3.3.- Variables de Reserva cognitive .....	53
3.4.- Adquisiciones de resonancia magnetica .....	54
3.5.- Análisis de las imágenes de RM .....	59

4.- RESULTADOS .....	61
ESTUDIO I: <i>Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance</i> .....	62
ESTUDIO II: <i>Specific anatomical associations between white matter integrity and cognitive reserve in normal and cognitively impaired elders</i> .....	78
Estudio III: <i>Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease</i> .....	90
ESTUDIO IV: <i>Greater default-mode network abnormalities compared to high order visual processing systems in amnesic MCI. An integrated multi-modal MRI study. Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuoperceptive network among a-MCI.</i> .....	102
5.- DISCUSIÓN GENERAL.....	123
6.- CONCLUSIONES .....	135
7.- REFERENCIAS.....	139
8.- RESUMEN DE LA TESIS .....	157
9.- ANEXO .....	183
- Cuestionario de variables relacionadas con la reserva cognitiva	
- Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuoperceptive network among a-MCI.Poster	



## PRÓLOGO

Esta tesis, presentada para obtener el título de Doctor de la Universitat de Barcelona, es el resultado de cuatro estudios realizados en el Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona y en el Servicio de Neurología del Hospital Clínic de Barcelona. Durante este período, he obtenido el Diploma d'Estudis Avançats (DEA) a través del Programa de Neurociències de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona.

Los principales resultados que conforman esta tesis doctoral han sido presentados en formato de 4 artículos y un abstract publicado.

Los distintos estudios han sido publicados en revistas internacionales, con un **factor de impacto global (IF) 17.18** (ISI of Knowledge, Journal Citation Reports 2009).

### ESTUDIO I:

Bosch B, Arenaza-Urquijo EM, Rami L, Sala-Llonch R, Junqué C, Solé-Padullés C, Peña-Gómez C, Bargalló N, Molinuevo JL, Bartrés-Faz D. **Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance.** Neurobiol Aging. 2010 Apr 3. IF: 5.937.

### ESTUDIO II:

Arenaza-Urquijo EM, Bosch B, Sala-Llonch R, Solé-Padullés C, Junqué C, Fernández-Espejo D, Bargalló N, Rami L, Molinuevo JL, Bartrés-Faz D. **Specific Anatomic Associations Between White Matter Integrity and Cognitive Reserve in Normal and Cognitively Impaired Elders.** American Journal of Geriatric Psychiatry 2010 Jun 25. F: 3.832.

### ESTUDIO III:

Bosch B, Bartrés-Faz D, Rami L, Arenaza-Urquijo EM, Fernández-Espejo D, Junqué C, Solé-Padullés C, Sánchez-Valle R, Bargalló N, Falcón C, Molinuevo JL. **Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease.** Cortex. 2010 Apr; 46(4):451-461. IF: 4.058

**ESTUDIO IV:**

Sala-Llonch R, Bosch B, Arenaza-Urquijo EM, Rami L, Bargalló N, Junqué C, Molinuevo JL, Bartrés-Faz D. **Greater Default-Mode Network Abnormalities Compared to High Order Visual Processing Systems in Amnesic Mild Cognitive Impairment: An Integrated Multi-Modal MRI Study.** Journal of Alzheimer's Disease. 2010 Aug 30. IF: 3.353

Roser Sala-Lloncha, Beatriz Bosch, Eider M. Arenaza-Urquijo, Lorena Rami, Carme Junqué, Núria Bargalló, José-Luis Molinuevo, David Bartrés-Faz. **Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuo-perceptive network among a-MCI.** (Presentado en 16th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM), Barcelona 2010).

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

<b>AD</b>	<i>Alzheimer's disease</i>
<b>ADL</b>	<i>Actividades de la vida diaria</i>
<b>ADN</b>	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
<b>AF</b>	<i>Anisotropía fraccional</i>
<b>ANOVA</b>	<i>Análisis de la varianza</i>
<b>APOE</b>	<i>Apolipoproteína E</i>
<b>ATRP</b>	<i>Patrón de activación relacionado con la tarea</i>
<b>BA</b>	<i>Áreas de Brodmann</i>
<b>BDAE</b>	<i>Boston Diagnostic Aphasia Examination</i>
<b>BEDPOSTX</b>	<i>Bayesian Estimation of Diffusion Parameters Obtained using Sampling Techniques</i>
<b>BOLD</b>	<i>Blood-oxygen level dependent</i>
<b>BPM</b>	<i>Beats per minute</i>
<b>CDIQ</b>	<i>Centre de diagnòstic per la imatge</i>
<b>CE</b>	<i>Corteza entorhinal</i>
<b>CERAD</b>	<i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i>
<b>CI</b>	<i>Cociente intelectual, en inglés Intelligence quotient ( IQ)</i>
<b>CSB</b>	<i>Cambios de sustancia blanca</i>
<b>CTR</b>	<i>Sujetos control</i>
<b>DA</b>	<i>Difusividad axial</i>
<b>DCL</b>	<i>Deterioro cognitivo leve</i>
<b>DCL-a</b>	<i>Deterioro cognitivo leve amnésico</i>
<b>DM</b>	<i>Difusividad media o Apparent Diffusion Coefficient (ADC)</i>

<b>DMN</b>	<i>'Default mode network of brain activity',o 'Patrón de actividad cerebral por defecto'</i>
<b>DR</b>	<i>Difusividad radial</i>
<b>DTI</b>	<i>Imágenes por tensor de difusión o Diffusion Tensor Imaging</i>
<b>DWI</b>	<i>Imagen potenciada en difusión, en inglés Difusión-weighted images</i>
<b>EA</b>	<i>Enfermedad de Alzheimer</i>
<b>EPI spin eco</b>	<i>Secuencias rápidas de eco de espín</i>
<b>FAQ</b>	<i>Cuestionario de actividad funcional</i>
<b>FAS</b>	<i>Test de fluencia verbal</i>
<b>FCSRT</b>	<i>Free and cued selective reminding test</i>
<b>FDR</b>	<i>False discovery rate</i>
<b>FDT</b>	<i>FMRIB's Diffusion Toolbox</i>
<b>FOV</b>	<i>Field of View</i>
<b>FSL</b>	<i>FMRIB Software Library</i>
<b>FWE</b>	<i>Family-Wise Error rate</i>
<b>GDS</b>	<i>Escala de Deterioro Global</i>
<b>HAD</b>	<i>Hospital Anxiety and Depression</i>
<b>HAROLD</b>	<i>Hemispheric asymmetry reduction in older adults</i>
<b>HSB</b>	<i>Hiperintensidades de sustancia blanca</i>
<b>ICA</b>	<i>Análisis de Componentes Independientes</i>
<b>LCR</b>	<i>Líquido cefalorraquídeo</i>
<b>LTM</b>	<i>Lóbulo temporomedial</i>
<b>MCI; a-MCI</b>	<i>Mild cognitive impairment: amnesic mild cognitive impairment</i>

<b>MELODIC</b>	<i>Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components</i>
<b>MMSE</b>	<i>Mini-Mental State Examination</i>
<b>MNI</b>	<i>Montreal Neurological Institute</i>
<b>MP RAGE</b>	<i>Three Dimensional Magnetization Prepared Rapid Acquisition gradient-echo</i>
<b>NINCDS-ADRDA</b>	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
<b>PROBTRACKX</b>	Probabilistic tracking
<b>RC</b>	<i>Reserva cerebral o cognitiva</i>
<b>RM</b>	<i>Resonancia magnética</i>
<b>RMd</b>	<i>Resonancia magnética por difusión</i>
<b>RMf</b>	<i>Resonancia magnética funcional</i>
<b>ROI</b>	<i>Region de interés</i>
<b>SB</b>	<i>Sustancia blanca</i>
<b>SG</b>	<i>Sustancia gris</i>
<b>SNC</b>	<i>Sistema Nervioso Central</i>
<b>SPM</b>	<i>Statistical Parametric Mapping</i>
<b>T@M</b>	<i>Test de alteración de memoria</i>
<b>TBSS</b>	<i>Tract-Based Spatial Statistics</i>
<b>TE</b>	<i>Tiempo de eco</i>
<b>TEP</b>	<i>Tomografía por emisión de positrones (PET)</i>
<b>TI</b>	<i>Tiempo de inversión</i>
<b>TMT-A</b>	<i>Trail Making Test A</i>



<b>TR</b>	Tiempo de repetición
<b>VBM</b>	<i>Voxel-based morphometry</i>
<b>VOSP</b>	<i>The Visual Object and Space Perception Battery</i>
<b>WAIS</b>	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale</i>

## 1.- INTRODUCCIÓN

## 1.- INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un fenómeno natural, continuo y universal que afecta a todos los seres vivos, aunque no de la misma manera o con la misma intensidad (Arkin, 1991).

El proceso de envejecimiento se ha asociado a un conjunto de procesos celulares (Mattson y col., 2006) que provocan el deterioro de un número importante de funciones cerebrales (Rodrigue y Raz, 2004) y de procesos sensoriales y cognitivos (Park y col., 2009). El envejecimiento viene acompañado de transformaciones estructurales y funcionales en prácticamente todos los órganos y sistemas (Ito y Marnes 2009), incluyendo el Sistema Nervioso Central (SNC) (Raz and Kennedy, 2009).

Se han descrito diferentes procesos que afectan a nivel molecular el SNC durante el envejecimiento normal: el estrés oxidativo, la sobreexposición de los receptores del glutamato, la insuficiencia de factores tróficos, la alteración del ADN y la acumulación de proteínas son fenómenos que potencian mecanismos apoptóticos a las células del SNC (por revisión de Mattson y col., 2006). Y estos cambios experimentados en el entorno de las neuronas, incluyendo los astrocitos, oligodendrocitos, la microglia y las células vasculares influyen en los procesos de daño neuronal. La afectación crónica de las células del SNC puede producir un estado de disfunción neuronal que comporte déficits cognitivos y conductuales, así como las alteraciones cerebrales típicamente descritas durante el envejecimiento (Farkas y col., 2001).

Además, los múltiples cambios cerebrales relacionados con la edad parecen ser relevantes para la comprensión de la vulnerabilidad y susceptibilidad del cerebro a procesos neurodegenerativos, vinculados a mecanismos patógenos de varias enfermedades. Así, el envejecimiento es un factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer (EA), que constituye la demencia más frecuente.

Esta tesis se centrado en la EA y su fase prodrómica que se manifiesta como el síndrome denominado Deterioro Cognitivo Leve (DCL), y especialmente, en el estudio de las características cerebrales que confieren a determinadas personas una resistencia a la manifestación del daño cerebral asociado al envejecimiento o a los estadios iniciales de la demencia, ya que es un área de máximo interés en investigación en neurociencia, ya que si se consiguen comprender los mecanismos específicos, podrán mejorarse las estrategias dirigidas a paliar el impacto del deterioro cognitivo en la edad avanzada.

## **1.1.- Envejecimiento sano**

### **1.1.1.- Características neuroanatómicas del envejecimiento normal**

La mayoría de investigaciones sobre envejecimiento describen cambios estructurales. Estudios post-mortem de envejecimiento cerebral han confirmado diferencias neuroanatómicas como la pérdida de peso y volumen cerebral, la dilatación de los ventrículos y la expansión de los surcos cerebrales. Otro cambio relacionado con el envejecimiento normal es la pérdida de conectividad cerebral por afectación de las fibras de SB (Raz y col., 2006). La mayor contribución a la pérdida de volumen cerebral asociados a la edad es la disminución de densidad sináptica, y no tanto por muerte neuronal (Masliash y col, 1993; Peters y col, 1996; Terry y col., 2001).

Los estudios de volumetría cerebral con resonancia magnética (RM) permiten evidenciar diferencias regionales respecto a la afectación neuroanatómica asociada a la edad. Los cambios volumétricos que afectan a la sustancia gris (SG) del córtex prefrontal son más importantes durante la edad adulta y el envejecimiento (Raz y col., 1997). Estudios realizados con la técnica de Voxel-Based Morphometry (VBM) corroboran los resultados de los estudios volumétricos, mostrando un declive general de la SG y una afectación específica del cíngulo, la ínsula y el parietal superior. Además estos estudios encuentran un incremento del volumen del líquido cefalorraquídeo y una relativa preservación de las estructuras temporales (amígdala, hipocampo y córtex entorrinal) (Good y col., 2001).

Por otra parte, estudios transversales y longitudinales han descrito cambios de volumen del hipocampo y la corteza entorrinal, mostrando un decremento de estas estructuras asociado a la edad. Sin embargo, la pérdida de volumen de estas estructuras a lo largo de la vida es inferior al del córtex prefrontal (Raz y col., 2006 por revisión). La afectación de las estructuras temporales mediales ha estado asociada al envejecimiento sano pero especialmente se la ha relacionado más ampliamente con la presencia de enfermedad de Alzheimer (EA). La atrofia de la región CA1 del hipocampo y del cortex entorrinal parecen ser propios de procesos patológicos (EA y Deterioro cognitivo leve tipo amnésico), mientras que el envejecimiento normal se caracteriza principalmente por una afectación de la región del subículo y del giro dentado (Small y col., 2002; Chetelat y col., 2008).

La instauración del uso habitual de técnicas de neuroimagen estructural ha permitido junto con el estudio de la materia gris, el estudio de la sustancia blanca. En la actualidad, técnicas de RM, como la Imagen por Tensor de Difusión (DTI) permite medir con precisión las alteraciones microestructurales de la SB in vivo a partir del análisis del movimiento de las

moléculas de agua que la integran. Esta técnica se ha utilizado para el estudio de distintas patologías, así como para el estudio de las fases de desarrollo cerebral y envejecimiento. La técnica de la DTI se basa en las propiedades anisotrópicas de agua. Esta anisotropía se puede representar como un elipsoide que refleja la difusión del agua en paralelo (movimiento browniano del agua en el tejido) o en perpendicular a las fibras neurales (Le Bihan y col., 2003). Esta técnica permite obtener distintos parámetros indicadores de daño microestructural (Salat y col., 2009).

Uno de los índices más utilizado es el denominado índice de 'anisotropía fraccional' (AF) el cual varía de 0 a 1 y refleja la direccionalidad de las moléculas de agua y la integridad de los haces de SB. Las fibras de sustancia blanca altamente organizadas presentan valores altos de AF (próximos a 1) debido a que la difusión de las moléculas de agua se encuentra fuertemente dirigida en el sentido de la organización de los tractos, mientras que se asume que una reducción en el índice de AF (valores próximos a 0) es indicativo de degeneración axonal (Müller y col., 2005).

La 'difusividad media' (DM), es otro índice que refleja una medida global del desplazamiento de las moléculas de agua y se ha utilizado para estudiar la organización tisular tanto de la sustancia gris y como la sustancia blanca (Baser y Pierpaoli, 1996). Los valores de la DM van en sentido inverso a los de la AF, es decir, a mayor DM menor organización de las estructuras analizadas. En este sentido, se ha hipotetizado que incrementos en la DM probablemente reflejan pérdida de neuronas, axones y arborizaciones dendríticas (Damoiseaux et al., 2009).

Además, el desplazamiento a lo largo del eje tensor principal denominado difusividad axial (DA) y el desplazamiento transversal conocido como difusividad radial (DR), son dos índices, paralelos y perpendiculares al eje principal de los axones, marcadores de pérdida axonal y desmielinización (Beaulieu y col., 2002).

Los estudios de DTI han propuesto un patrón de deterioro asociados a la edad que sugiere un gradiente antero-posterior, con cambios de SB más prominentes en los lóbulos frontal y parietal, y menor afectación del lóbulo occipital y de SB posterior (Salat y col., 2009). Este patrón antero-posterior se ha descrito repetidamente en el cuerpo calloso (Pfefferbaum y col., 2000; Salat y col., 2005; Sullivan y col., 2006). Estudios recientes vinculan la reducción de la anisotropía de la parte anterior del cuerpo callosos durante el envejecimiento con un metabolismo de la glucosa cerebral inferior en esta región (Inoue y cols., 2008) y peor rendimiento en tareas cognitivas (Jokinen y col., 2007) vinculadas especialmente con circuitos

córtico-subcorticales (Nordhal y col., 2006). Estos cambios no están necesariamente vinculados a una pérdida de volumen total de SB y parecen comportar un declive lineal de la integridad de la SB a partir de la edad adulta (Sullivan y col., 2006, por revisión).

Los cambios evidenciados durante el envejecimiento comportan un decremento de la AF y aumento de la difusividad media (DM) (Pfefferbaum y col., 2005), indicando una disminución de la integridad y la direccionalidad de la SB y un aumento de la difusión de las moléculas de agua.

Varios factores están implicados en la variación de la AF, incluyendo la mielinización, la densidad de los axones, la integridad de la membrana axonal, el diámetro del axón (Beaulieu, 2002) y la coherencia intravoxel de orientación de las fibras (Smith y col., 2007). Así, para una mejor comprensión de la participación de la SB en los trastornos neuropsiquiátricos, se ha propuesto el uso de múltiples medidas de tensor de difusión (Alexander y col., 2007). En este sentido, trabajos recientes han descrito que la difusividad radial (DR) presenta mayor sensibilidad que la difusividad axial (DA) para revelar cambios de SB en el proceso de envejecimiento (Davis y col., 2009; Zhang y col., 2008).

Estudios longitudinales muestran un incremento de hiperintensidades de sustancia blanca (HSB), denominados 'leukoaraiosis', por parte de V. Hachinski (2006) asociadas al envejecimiento normal distribuidas por los dos hemisferios con mayor afectación de SB frontal y periventricular (Wen y col., 2004). Los estudios clínico-patológicos indican que estas señales anormales se corresponden típicamente con un patrón mixto de infartos lacunares, desmielinización y arteriosclerosis entre otros. La propia edad y los factores de riesgo vascular incrementan la probabilidad de la presencia de estos cambios.

El patrón de cambios en los valores de DTI descrito durante el envejecimiento, muestra una relación negativa con el rendimiento cognitivo (O'Sullivan y col., 2001; Vernooij y col., 2009) sobretodo en pruebas que evalúan funciones ejecutivas, atencionales y de velocidad de procesamiento de la información (Jokinen y col., 2007).

### 1.1.2.- Características cognitivas del envejecimiento sano

Los cambios neuroanatómicos descritos en el envejecimiento sano se han resumido en tres patrones de deterioro cognitivo asociado a la edad: el deterioro constante a lo largo de la vida, el declive en los últimos años y relativa estabilidad (Hedden y col., 2003 por revisión).

Sin embargo, existe cierta especificidad acerca de las funciones cognitivas que se afectan y las que permanecen más o menos estables. Se describen como funciones cognitivas que tienden a declinar con la edad los mecanismos básicos de procesamiento de la información como las funciones ejecutivas, la memoria de trabajo y la codificación de la información. Funciones cognitivas como la velocidad de procesamiento de la información y atención también se han propuesto para explicar los problemas de memoria y de funciones ejecutivas descritas durante el envejecimiento, y estas funciones relacionadas neuroanatómicamente con la presencia de la afectación de SB, pueden conducir a un procesamiento ineficiente de la información, al uso de estrategias cognitivas pobres y en consecuencia a una afectación de estas funciones cognitivas (Tisserand y col., 2003 por revisión).

Las tareas de vocabulario y tareas que implican conocimiento semántico junto con tareas altamente practicadas no suelen declinar durante la etapa adulta (Hedden y col., 2003). La preservación de estas habilidades puede ser de utilidad para desarrollar estrategias y compensar otros déficits, garantizando un envejecimiento saludable (Shimamura y col., 1995).

También parecen mantenerse estables, durante el envejecimiento normal, la memoria implícita, la memoria autobiográfica, el procesamiento de las emociones y la atribución de estados mentales a otros individuos (teoría de la mente) (Fromholt y col., 2003). Los procesos automáticos o sobre aprendidos sufren pocos cambios durante el envejecimiento, de forma congruente con estos hallazgos el reconocimiento de información previamente aprendida y automatizada se mantiene durante el envejecimiento normal.

El deterioro cognitivo asociado a la edad no depende de estructuras anatómicas aisladas sino del funcionamiento de distintos subprocesos. El mantenimiento de la integridad de las fibras de SB permite la conexión de diversas regiones y el correcto funcionamiento de estos subprocesos, influyendo en el rendimiento cognitivo (Messulam 1998; McIntosh 2000). Por lo tanto, el daño de los circuitos de SB es de gran importancia para entender los déficits cognitivos del envejecimiento normal, especialmente la alteración de circuitos prefrontales.

### 1.1.3.- Características funcionales del envejecimiento sano

La disciplina de la neurociencia cognitiva del envejecimiento se centra en los vínculos entre el envejecimiento cognitivo y cerebral (por revisión, Cabeza, 2001). Estos estudios emplean una gran variedad de métodos, pero los más eficaces para estudiar la relación entre los cambios estructurales y la capacidad cognitiva de la edad senil son las técnicas de neuroimagen funcional, como la tomografía por emisión de positrones (TEP) y la resonancia magnética funcional. Estos métodos permiten estudiar cambios hemodinámicos asociados con el funcionamiento neuronal, bien en reposo o mientras se está procesando información cognitiva.

El TEP y la RMf se definen como técnicas hemodinámicas debido a que investigan la función neuronal indirectamente midiendo los cambios en el flujo sanguíneo. La técnica de la TEP presenta determinadas limitaciones como es la necesidad de inyectar un contraste marcado radioactivamente en los pacientes o su relativamente modesta resolución espacial y temporal. La técnica de la RM funcional (RMf) mediante el método BOLD (blood-oxygen level dependent), y sin que sea necesaria la inyección de ninguna sustancia de contraste, permite medir cambios en la oxigenación cerebral regional en zonas donde existe un aporte extra de oxihemoglobina durante la realización de tareas cognitivas, aspecto que se relaciona con la actividad neuronal, particularmente con la generación de potenciales graduados postsinápticos (Logothetis y col., 2004). Esta técnica resulta totalmente inocua, pudiendo repetir en el tiempo las exploraciones que sean necesarias, además de poseer una resolución temporal y espacial superior. Al no depender de la vida media de los radioisótopos, los diseños que se pueden realizar con la RMf son mucho más versátiles, aspecto que es esencial para el estudio de las funciones cognitivas (para revisión ver Grady y col., 2001).

Los estudios de neuroimagen han mostrado que la función del cerebro del anciano es una función compleja y diferente a la observada en el cerebro joven, incluso cuando el nivel de ejecución es similar en ambos grupos, y que no se trata, como se suponía hace algunos años, de una reducción o debilitamiento de la actividad cerebral, ya que durante el envejecimiento se presenta una reorganización funcional del cerebro, dentro de un proceso dinámico de optimización.

Se ha descrito que los ancianos utilizan áreas cerebrales más extensas, de ambos hemisferios (bilateralidad), para realizar tareas exclusivamente unilaterales; es decir, durante el envejecimiento tiende a desaparecer la lateralización de las funciones cerebrales, uno de los



rasgos más característicos de la organización funcional del sistema nerviosos (Reuter-Lorenz, 2002).

El modelo HAROLD (Hemispheric Asymmetry Reduction in Old Adults) es un concepto de la neurociencia cognoscitiva que integra los aportes de la psicología y de la neurociencia del envejecimiento sobre los efectos que el envejecimiento ocasiona en la actividad cerebral durante el desarrollo de actividades cognitivas. El modelo postula que en circunstancias similares, la actividad de la corteza prefrontal muestra un menor grado de lateralización en los adultos mayores que en los jóvenes, fenómeno que puede corresponder a una función compensatoria o reflejar un proceso de diferenciación, dado que en el cerebro del anciano, al realizar la misma tarea cognoscitiva, se observa activación de nuevas áreas o de mecanismos neuronales diferentes a los que se activan en un cerebro joven (Reuter-Lorenz, 2002).

Al comparar la actividad cerebral del adulto joven con la actividad del cerebro del anciano se ha descrito disminución de la activación en la corteza occipital y un aumento en la activación en las regiones frontales (Cabeza y col., 2001), es decir, se observan interesantes cambios en el funcionamiento neural para adaptarse a las distintas demandas cognitivas (Dennis y col., 2008).

En resumen, el análisis de los diferentes estudios sobre el envejecimiento permite suponer que el proceso de envejecer no es un fenómeno unidireccional sino que se trata de un proceso complejo caracterizado por la reorganización, optimización y aprovechamiento de la plasticidad funcional para obtener una mejor adaptación al medio y mantener una vida productiva en la vejez.

## **1.2.- Envejecimiento patológico**

### **1.2.1.-Deterioro cognitivo leve**

Existe una continuidad clínica y funcional entre los individuos normales, los de edad avanzada, los que presentan alteraciones cognitivas ligeras que no alcanzan el rango de la demencia y los que cumplen criterios clínicos de demencia. Este hecho implica una serie de problemas conceptuales y diagnósticos.

Con el objetivo de favorecer la comunicación entre los investigadores, durante la segunda mitad del siglo pasado, muchos autores trataron de definir una entidad clínica caracterizada por la presencia de déficits cognitivos leves que precedían o podía preceder a la demencia (revisado en Bartrés-Faz y col., 2001). Se describieron muchos conceptos con el

objetivo de detectar aquellos pacientes con déficit cognitivo que en un breve periodo de tiempo desarrollarían una demencia. Estas primeras conceptualizaciones de los estados transicionales entre la normalidad y la demencia se centraban en la pérdida de memoria y estaban implícitamente orientadas hacia la detección de la enfermedad de Alzheimer. Esta corriente culminó con la definición, por parte de Petersen y col (1999) del Deterioro Cognitivo Ligero. Posteriormente se realizaron ampliaciones de los criterios originales (Petersen y col., 1999) para intentar superar la heterogeneidad clínica y neuropsicológica del grupo de pacientes con DCL (López y col., 2003, 2006).

El Deterioro cognitivo leve (DCL) es el término acuñado para la entidad sindrómica que define un grupo de pacientes con problemas de afectación de la memoria u otro dominio cognitivo aunque las actividades de la vida diaria se encuentran preservadas y no cumplen criterios de demencia. Los estudios epidemiológicos indican que las personas con DCL se encuentran en alto riesgo de padecer enfermedad de Alzheimer. Aunque puede variar en función de los criterios y la población estudiada, se estima que la prevalencia del DCL es de un 10% en la población de 65 años y este porcentaje se eleva conforme la edad de la población aumenta, siendo, por tanto, el envejecimiento un importante factor de riesgo (López y col., 2003; Ganguli y col., 2004). Otras variables que pueden precipitar la aparición de deterioro cognitivo son los factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial (de Leeuw y col., 2002), la diabetes (Mac Knight y col., 2002) o la presencia del síndrome metabólico (Segura y col., 2009), asociándose dos de estas variables con alteraciones de la sustancia blanca cerebral (Breteler y col., 1994). En cuanto a los factores de riesgo genético, se ha descrito que los sujetos que presentan al menos un alelo APOE E4 tienen un mayor riesgo de desarrollar deterioro cognitivo y presentan un peor pronóstico que los no portadores (Serra-Grabulosa y col., 2003; Lehtovirta y col., 2000; Bartrés-Faz y col., 2008). Además este riesgo aumenta cuando se tienen dos copias de los alelos APOE E4, una herencia homocigótica del gen APOE (Reiman y col., 2009).

En cuanto a la evolución clínica de estos pacientes, puesto que el DCL es un síndrome clínico, hay que remarcar que no todos los sujetos desarrollan demencia, ya que algunos de ellos se mantienen estables e incluso algunos de ellos vuelven a su estado cognitivo de funcionamiento normal (Ritchie, 2004).

Por otra parte, se estima que la tasa de conversión anual es de 10-15% (Richie y col., 2001) y que esta cifra puede aumentar hasta un 50% después de tres años de seguimiento (Fisher y

col., 2007) por lo que DCL define un estado transicional entre envejecimiento normal y la demencia y es considerada una condición prodrómica de la propia EA (Petersen y col., 2001).

La alteración de la memoria episódica representa el síntoma cognitivo inicial de la enfermedad de Alzheimer (EA). Por ese motivo, el grupo de pacientes amnésicos constituye un grupo de gran interés clínico y científico a fin de identificar a aquellos pacientes con mayor probabilidad de evolucionar hacia EA en un futuro inmediato (Morris y col., 2001).

El DCL amnésico (DCL-a) se caracteriza por un déficit objetivo de memoria aislado de acuerdo con la edad y nivel de escolaridad y corroborado por un informador, con preservación del resto de áreas cognitivas y actividades de la vida diaria, junto con ausencia de demencia.

Uno de los objetivos de la comunidad científica, actualmente, es el diagnóstico precoz de la EA en fases previas de la demencia, es decir, detectar muy tempranamente el daño cerebral que inicialmente se manifiesta como un síndrome de la memoria y que con el tiempo evolucionará a un síndrome de demencia, dada la importancia de una intervención terapéutica temprana, por ese motivo es de gran interés el estudio de pacientes con DCL-a.

### **1.2.2.-Enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una entidad anatomoclínica de naturaleza degenerativa y curso progresivo. Se caracteriza clínicamente por causar una demencia y morfopatológicamente por la presencia de ovillos neurofibrilares (compuesto de la proteína tau fosforilada) y placas neuríticas o seniles, que se forman por depósitos anormales de proteína  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) (La Ferla, 2010). La patología de la enfermedad de Alzheimer comienza en el lóbulo temporal medial, presentando una alteración de memoria episódica, y progresa hacia zonas corticales del lóbulo temporal lateral y áreas de asociación de la corteza posterior, asociadas al lenguaje, a la memoria semántica y las funciones ejecutivas. La enfermedad es rara vez hereditaria, debida a mutaciones de diferentes genes, en la mayor parte de las ocasiones su presentación es esporádica, en relación con diversos factores de riesgo, entre los que sobresale la edad.

La EA es la causa más frecuente de demencia siendo responsable de al menos un 60-70% de las demencias. La prevalencia se dobla cada 5 años después de los 65 hasta calcularse una prevalencia del 40% para los mayores de 85 años (Rice, 2001). La investigación básica ha progresado sustancialmente en el conocimiento de la etiología y sobretodo de la patogénia de

la EA y existen numerosos estudios que muestran que la patología de la EA está presente décadas antes de que se pueda hacer un diagnóstico clínico de demencia (Braak y Braak , 1991). Actualmente hay numerosos fármacos modificadores de la enfermedad que se están testando en ensayos clínicos (Hardy y Selkoe., 2002). El beneficio máximo de estos fármacos es esperable que ocurra en fases precoces de la enfermedad, antes de que la neurodegeneración esté muy extendida. Por ese motivo, actualmente, el diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer es una prioridad.

Parece que la aplicación de las técnicas de neuroimagen y especialmente la resonancia magnética (RM), en sus vertientes estructural y funcional, pueden ser de gran ayuda para el diagnóstico precoz ya que han aportado una gran cantidad de información respecto al funcionamiento del cerebro durante la realización de tareas cognitivas en envejecimiento sano, así como también ha facilitado información relevante que ha contribuido a un mejor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer (EA) y de su fase prodrómica, que, cómo hemos visto anteriormente, sindrónicamente se manifiesta como deterioro cognitivo leve (DCL).

### **1.2.3.- Neuroimagen estructural en deterioro cognitivo leve y estadios iniciales de la EA**

#### ***Estudios volumétricos de la sustancia gris***

En el DCL los estudios volumétricos de delimitación manual se han centrado en el estudio del lóbulo temporomedial (LTM) evidenciando una atrofia significativa bilateral del hipocampo (sobre todo en la región CA1), de acuerdo con la afectación fundamental de la memoria declarativa en la condición (Jack, 1999) y de la corteza entorhinal (CE). Puesto que la CE se encuentra neuropatológicamente afectada en la EA antes que el propio hipocampo, la hipótesis subyacente a estos estudios predecía que los cambios volumétricos en esta estructura permitirían diferenciar de forma más precoz a los casos con DCL de los controles. En apoyo a estas hipótesis están los datos que evidencian que la atrofia de la CE se relaciona con la pérdida de memoria en el envejecimiento pero no constituye una estructura que se afecte significativamente con la edad en casos donde no hay afectación de la memoria (Rodríguez y col., 2004). En el caso del DCL existen datos que aportan evidencia experimental respecto a una afectación precoz de la CE que permitiría distinguir a estos pacientes de forma más clara respecto a los controles mientras que la atrofia del hipocampo permitiría mejor la distinción entre controles y EA (Pennanen y col., 2004), aunque también se han publicado hallazgos sin

encontrar diferencias en cuanto a la capacidad de discriminar entre controles, DCL y EA para estas dos medidas (Xu y col., 2000). Respecto a los estudios de evolución clínica, parece que efectivamente las medidas de la CE tienen un valor pronóstico superior para la conversión a demencia entre los pacientes con DCL respecto a los datos de atrofia en el hipocampo (Killiany y col., 2002; De Toledo Morell y col., 2004; Tapiola y col., 2006), aunque estos también son predictores significativos (Tapiola y col., 2006).

Los resultados anteriores destacan la importancia de considerar la integridad del LTM en el DCL y en estadios iniciales de la EA. Sin embargo, con la introducción de los métodos para la segmentación automática a partir de imágenes de RM ha sido posible detectar aumento del tamaño del sistema ventricular en pacientes con DCL y en pacientes en estadios iniciales de demencia (Nestor y col., 2008). Además, mediante el uso de estas técnicas, ha sido posible demostrar que la afectación estructural cerebral del DCL se extiende fuera del LTM hacia la corteza asociativa posterior, en un patrón que recuerda los estadios neuropatológicos de la EA y donde también parecen verse afectados el tálamo y el cíngulo anterior (Chetelat y col., 2002).

Respecto a la sensibilidad de los análisis morfométricos automatizados para predecir la evolución clínica de los pacientes con DCL, se ha observado que el grupo de pacientes con DCL, que van a convertir en un periodo de entre 18 y 24 meses, presentan reducciones volumétricas de la sustancia gris en distintas áreas corticales incluyendo la corteza temporoparietal, el cíngulo posterior, el cíngulo anterior, los giros frontales medio y superior bilateralmente, la insula izquierda, y el giro fusiforme y supramarginal izquierdos (Chetelat y col., 2005; Bozzali y col., 2006). De hecho, los datos apuntan que el grupo destinado a convertir a EA a medio plazo presenta pocas diferencias sustanciales en cuanto a la morfología cerebral cortical en comparación con los pacientes donde ya se ha establecido un diagnóstico de EA (Bozzali y col., 2006).

En la actualidad, nuevas técnicas de análisis de neuroimagen añaden información a los resultados de tipo volumétrico y quizá en demencias la medida más interesante es la que permite analizar el grosor del manto cortical. Trabajos recientes realizados con esta técnica permiten identificar, en pacientes con EA inicial, regiones concretas en las que de forma consistente existe un adelgazamiento del manto cortical. El patrón de pérdida del grosor cortical incluye sobre todo el lóbulo temporal medial, el polo temporal y corteza parietal inferior (giro angular y supramarginal), así como en menor medida el precuneus y regiones frontales. Estos métodos permiten demostrar que existe una correlación entre el grado de

adelgazamiento del grosor cortical total y el grado de afectación clínica en los pacientes con EA.

### ***Estudios de sustancia blanca y RM de difusión***

Los trabajos de RM estructural en el DCL y la EA no se han limitado al estudio de la materia gris sino que también se han interesado por el estado de la sustancia blanca. En este tipo de pacientes existen datos recientes midiendo la localización y extensión de los CSB que indican mayores volúmenes de lesión en las regiones periventriculares posteriores y en el *splenium* del cuerpo calloso. Los pacientes con DCL presentarían según estos resultados un volumen de lesión intermedio entre el observado en sujetos controles y el hallado en un grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Según los autores, la correlación de los cambios de sustancia blanca (CSB) en estas áreas con los factores de riesgo vascular por un lado y con la función cognitiva por el otro, indican un probable efecto aditivo vascular y neurodegenerativo para explicar este tipo de lesiones en los pacientes (Yoshita y col., 2006).

En relación a la investigación de la integridad de la sustancia blanca cerebral en el DCL y la EA, merece la pena también destacar las investigaciones recientes realizadas con la técnica de 'RM de difusión' (RMd), que como se comentaba anteriormente, permite estudiar la microestructura de la sustancia blanca cerebral a partir del análisis del movimiento de las moléculas de agua que la integran (Le Bihan, 2003).

En el envejecimiento normal se ha descrito que los estudios de RMd muestran una afectación de la integridad de la sustancia blanca (índices de AF reducidos) principalmente en regiones anteriores del encéfalo (Pfefferbaum y col., 2005). En el caso del DCL, los trabajos realizados parecen indicar que no existen diferencias significativas entre el DCL y la EA en comparación con individuos sanos del mismo rango de edad en regiones anteriores, mientras que sí se detectan áreas de afectación posteriores de la sustancia blanca, como la sustancia blanca subyacente a los lóbulos parietales (Medina y col., 2006), las fibras del cíngulo posterior (Fellgiebel y col., 2005) o en la sustancia blanca alrededor del giro parahipocámpal, del tálamo y del cíngulo posterior. Además, se han establecido correlaciones positivas entre la integridad de la sustancia blanca adyacente al lóbulo temporomedial (LTM) y pruebas de memoria declarativa (Rose y col., 2006).

En el caso de la EA inicial se ha hallado una reducción de los fascículos cíngulos y frontooccipital bilateralmente, así como una correlación positiva entre la integridad del

fascículo cingulado izquierdo y el desempeño en el test de denominación de Boston y la puntuación total de aprendizaje verbal medio de la lista CERAD (Fellgiebel y col., 2008).

Hay datos que indican un aumento de la difusividad media (DM) en medidas derivadas de la Resonancia Magnética por difusión (RMd). En el DCL se han observado aumentos de la DM en diversas regiones neocorticales parietales, temporales, occipitales, y frontales (Rose y col., 2006; Kantarci y col., 2001; Fellgiebel y col., 2004) así como en el hipocampo (Muller y col., 2005; Fellgiebel y col., 2004). Estos estudios, además, han revelado correlaciones negativas entre los índices de DM en regiones como la CE, el giro supramarginal y regiones prefrontales y el rendimiento neuropsicológico de los pacientes en pruebas como el MMSE, el test auditivo-verbal de Rey, el test de denominación de Boston o pruebas de fluencia verbal (Rose y col., 2006), así como correlaciones negativas entre el índice de DM y el volumen del hipocampo (Fellgiebel y col., 2004). En el caso de esta última estructura además, índices elevados de DM en el hipocampo representan un estado de mayor riesgo para la conversión a demencia (Fellgiebel y col., 2004).

Los cambios de SB en la patología de Alzheimer pueden estar relacionados con la carga A $\beta$  (Chalmers et al., 2005) con el daño axonal y la degeneración walleriana (Alexander y col., 2007; Basser y Pierpaoli., 1996; Beaulieu, 2002; Chalmers y col., 2005; Damoiseaux y col., 2009; Davis y col., 2009; Duan y col., 2006; Fellgiebel y col., 2008; Harsan y col., 2006; Huang y Auchus., 2007; Smith y col., 2007; Song y col., 2005; Xie y col., 2006; Zhang y col., 2007, 2008). En esta enfermedad neurodegenerativa se han descrito cambios de DA relacionados con estos procesos, aunque los resultados obtenidos para este índice son contradictorios. Algunos autores describen aumentos de DA en la EA (Acosta Cabronero y col., 2009; Salat y col., 2010;) mientras que otros describen disminución de DA (Huang y col., 2007). Por otra parte, muy pocos estudios han investigado la DR y los índices de DA en un mismo grupo de pacientes con EA (Salat y col., 2010; Acosta-Cabronero y col., 2009) y sujetos de edad avanzada (Zhang y col., 2008; Bennet y col., 2009). Y, por lo que sabemos, ninguna investigación ha estudiado todavía en el DCL si hay alteraciones específicas de la DR y los índices de DA mediante un análisis de todo el cerebro, y cómo se relacionan con la AF y los resultados de DM.

Así, en base a la literatura previa, el estudio de la integridad de la SB como marcador de estado cognitivo y clínico junto con el estudio de los diferentes índices de DTI parece ser una posibilidad prometedora para detectar cambios incipientes de SB a lo largo del continuo del proceso degenerativo de la EA (Mielke y col., 2009; Nakata y col., 2009).

#### **1.2.4.- Neuroimagen funcional en deterioro cognitivo leve y estadios iniciales de la EA**

##### ***Estudios en reposo***

La RMf es una técnica especialmente adecuada para el procesamiento de tareas cognitivas. En el caso de la demencia las limitaciones intrínsecas que presentan este tipo de pacientes a la hora de resolver estas tareas ha generado una línea de investigación a partir del estudio de la condición cerebral ‘en reposo’, en la que se mide la actividad cerebral mientras los pacientes se encuentran dentro del escáner, sin ningún tipo de estimulación cognitiva. En el envejecimiento tanto en el DCL como en la EA, uno de los patrones cerebrales en reposo que ha recibido más atención es el denominado ‘default mode network of brain activity’ (DMN) o ‘patrón de actividad cerebral por defecto’. El descubrimiento de este patrón fue a partir de los estudios de TEP, en los que se observó que existen regiones con mayor activación durante las condiciones previas que durante la ejecución de la tarea cognitiva (Shulman y col., 2004).

El patrón de activación por reposo incluye regiones funcionalmente conectadas, predominantemente regiones dorsales y ventromediales, el cortex posteromedial (cingulado posterior, precuneo y córtex retrosplenial), áreas parietales inferiores y de una manera menos sólida la formación hipocámpica. Es importante remarcar que esta red de actividad en reposo se presenta como una serie de subsistemas interconectados que convergen en regiones especialmente importantes ‘de relevo’, siendo quizá la más característica la zona de la corteza cingulada posterior (Buckner y col., 2008).

El patrón anatómico de la DMN, salvo algunas particularidades, es muy consistente a través de diferentes tareas cognitivas y enfoques metodológicos (es decir, en estado de reposo o inducido por tareas de activación) (McKiernan y col., 2003; Rombouts y col., 2005; Harrison y col., 2008).

Los procesos cognitivos que estarían participando durante este tipo de activaciones indican que se trata de estados mentales interiores no dirigidos, procesos de memoria y atencionales de tipo difuso o ‘deambulación mental’ (Damoiseaux y col., 2008; Buckner y col., 2008).

Estudios recientes demuestran que este patrón aparece tanto en reposo como ante activaciones de procesos que requieren imaginación o simulación mental de perspectivas alternativas o escenarios imaginarios. Se ha observado que los sujetos jóvenes y sanos, cuando focalizan la atención hacia una tarea determinada, presentan ‘desactivaciones’ de las



regiones que forman parte de esta red cerebral, y que en los pacientes con EA, el déficit funcional más importante revelado mediante la RMf en estas áreas es un decremento de la desactivación o la carencia de desactivaciones particularmente en la región posteromedial (Lustig y col., 2003; Greicius y col., 2004; Rombouts y col., 2005). Estos hallazgos se han corroborado en trabajos posteriores tanto en condiciones de reposo “absoluto” como en periodos de reposo respecto a las activaciones ante tareas cognitivas concretas (Celone y col., 2006; Rombouts y col., 2005).

Otros estudios de RMf, centrados en las desactivaciones inducidas por la tarea, también muestran que las áreas de DMN son más activas durante las condiciones pasivas de la tarea (ej. fijación pasiva, resting, etc.) que durante las condiciones directamente asociadas a la tarea, o bien, muestran desactivaciones durante la condición experimental (ej. estudios de resting-state o de desactivaciones inducidas por la tarea) (McKiernan y col., 2003; Rombouts y col., 2005; Harrison y col., 2008).

Se ha evidenciado que en personas de edad avanzada los déficit de desactivaciones del patrón de reposo correlacionan con una mayor alteración cognitiva de tipo disejecutivo (Damoiseaux y col., 2008).

De forma interesante, los patrones de las desactivaciones disfuncionales del cerebro en la DMN se observan también en pacientes con DCL (Rombouts y col., 2005; Celones y col., 2006; Petrella y col., 2007) y podrían tener implicaciones clínicas. Así, los DCL más afectados clínicamente exhiben una menor capacidad para desactivar esa áreas durante tareas de memoria (Celone y col., 2006) y este déficit está particularmente presente en los casos que desarrollan demencia en evaluaciones posteriores (Petrella y col., 2008).

### ***Estudios de activación***

Como se ha comentado con anterioridad, debido a su baja invasividad y su buena resolución espacial, la RMf ofrece unas características muy interesantes para el estudio de la activación cerebral relacionada con los procesos cognitivos.

En el caso de la EA se pueden destacar tres tipos de hallazgos generales. En primer lugar, existe un déficit de desactivación del DMN ante tareas cognitivas, tal y como se ha podido evidenciar en el apartado anterior. En segundo lugar, se aprecia una reducción consistente en la activación del LTM durante el procesamiento de pruebas de aprendizaje asociativo. Este hallazgo fue descrito por primera vez por el grupo de Boston, utilizando un paradigma de aprendizaje (asociación de caras y nombres), y se observó que existe un

decremento progresivo en cuanto a la activación del hipocampo desde las personas jóvenes sanas, pasando por el grupo de envejecimiento normal hasta los pacientes con EA leve. Estos resultados probablemente reflejen que el daño estructural subyacente al hipocampo en la EA resulta en déficit de activación. Por último, confirmando estos resultados, también se ha observado que durante tareas de aprendizaje los pacientes con EA 'sobreactivan' determinadas regiones. Por ejemplo, de nuevo en una tarea de aprendizaje de caras y nombres, el grupo con EA presentaba sobre activaciones en regiones frontales y parietales respecto los controles (Pariente y col., 2005). Estos datos ponen de manifiesto que en la EA todavía existen determinados mecanismos compensatorios que representan el sustrato neurofuncional relacionado con el procesamiento cognitivo adecuado ante determinadas tareas.

En el caso del DCL la función más extensamente estudiada son los procesos de aprendizaje y memoria aunque también han sido investigadas otras funciones cognitivas.

Los resultados de los primeros trabajos en DCL muestran que los cambios neurodegenerativos incipientes en la región del LTM en el DCL producen también un déficit funcional recogido en forma de reducción de la señal BOLD en RMf, durante la realización de tareas de aprendizaje, que además parece ser de igual magnitud que la EA inicial (Machulda y col., 2003). Sin embargo, investigaciones más recientes que evalúan la activación cerebral en DCL, también durante tareas de aprendizaje, han encontrado resultados aparentemente contradictorios, describen mayor activación en zonas del LTM respecto a los sujetos CTR y pacientes con EA (Dickerson y col., 2005). Las diferencias en los resultados entre los distintos estudios respecto a las reducciones o aumentos de la actividad del LTM parecen poder explicarse en función de la gravedad clínica que presentan los pacientes. Al menos esta es la hipótesis de Dickerson y col., (2005), argumentando la existencia de una relación no lineal en cuanto al grado de activación cerebral en el continuum que va desde la normalidad, pasando por el DCL, hasta la EA. Según esta hipótesis, durante los primeros estadios del DCL, cuando la afectación cognitiva y conductual es mínima, se observarían incrementos de activación cerebral ante las demandas cognitivas, puesto que el sistema nervioso en este punto todavía intentaría compensar por el déficit estructural subyacente. En este punto existiría una compensación efectiva y el rendimiento de los pacientes en tareas de aprendizaje medidas con los paradigmas de la RMf podría ser superior o similar a los de los sujetos controles. En cambio, en fases más avanzadas del DCL se observaría una reducción de la activación respecto a los controles parecida a la observada en casos de EA leve, aspecto que reflejaría una mayor

alteración cerebral y se traduciría en una ausencia de mecanismos compensatorios a nivel comportamental (rendimiento en pruebas de aprendizaje similar al grupo de EA).

Como se ha comentado previamente, aunque la RMf se ha utilizado inicialmente y de forma principal en el estudio de los procesos de aprendizaje y memoria en el DCL, también ha permitido incrementar el conocimiento acerca de otras funciones cognitivas, evidenciando que aunque clínicamente no se encuentren afectadas (en los casos incluyendo DCL amnésico) sí existen disfunciones a nivel neurofuncional, revelando la potencia de esta técnica para detectar alteraciones cognitivas 'subclínicas' en este grupo de pacientes (Rosano y col., 2005; Yetkin y col., 2006; Vandenbulcke y col., 2007).

Algunos trabajos de RMf han revelado patrones anormales de actividad cerebral en los dominios de atención (Dannhauser y col., 2005) y de ejecución (Rosano y col., 2005). En un estudio reciente (Lenzi y col., 2009) los autores integraron el estudio del lenguaje, la memoria, la atención y la empatía en una cohorte de pacientes con DCL. Una prometedora línea de investigación se ha centrado en la investigación del procesamiento visual complejo en pacientes con DCL, teniendo en cuenta la anatomía bien caracterizados de las vías visuales dorsal y ventral y el hecho de que las funciones visuoespaciales y visuoperceptivas son de las primeras áreas afectadas en la EA. Estas investigaciones han revelado reorganizaciones funcionales preclínicas en áreas implicadas en el procesamiento visuales complejo tanto visuoespacial (Vannini y col., 2007; Bokde y col., 2008) como visuoperceptivo (Bokde y col., 2006, 2008, 2010; Teipel y col., 2007) en DCL y EA inicial. El estudio por resonancia magnética funcional de las funciones de procesamiento visual en estos pacientes es una prueba más de relevancia clínica, ya que se ha demostrado que los pacientes que convertirán a EA presentan respuestas cerebrales aumentadas ante la demanda de tareas relacionadas con el procesamiento visuoespacial, probablemente reflejando una menor eficiencia neural debido a la acumulación de patología de EA (Vannini y col., 2007).

Como se citaba con anterioridad, una menor desactivación del DMN en los pacientes con DCL representa un factor de riesgo para la conversión a demencia (Petrella y col., 2007). Las variaciones en la señal BOLD de RMf durante el proceso de tareas cognitivas en otras regiones, en concreto las sobreactivaciones de áreas, también parece tener un valor similar (Dickerson y col., 2005; Vannini y col., 2007).

Debido a las potenciales implicaciones para la prevención de la demencia en estos pacientes, estos datos ponen de manifiesto que uno de los retos interesantes en la investigación con RMf en DCL para el futuro es profundizar en el conocimiento de las regiones y áreas conectadas con

valor pronóstico, a lo largo de diferentes tipos de demanda cognitiva y en EA para ver progresión de la enfermedad.

Recientemente han empezado a parecer trabajos más allá de estudiar la actividad cerebral regional, investigan el patrón de conectividad de las redes neurales durante el procesamiento de la información. Esta aproximación utilizada en EA con imágenes TEP ha evidenciado desconexiones entre la corteza prefrontal y el hipocampo (Grady 2001). En el caso del DCL, el estudio de las redes neuronales mediante RMf podría ser sensible para detectar disfunciones incipientes en la actividad cerebral respecto a los procedimientos estándar del análisis regional. En un trabajo reciente, se ha evidenciado una reducción significativa de la conectividad de la corteza fusiforme derecha con áreas de la corteza posterior (ej. cuneus, giro lingual, parietal superior), del lóbulo temporal medial, y en regiones frontales laterales y mediales durante la percepción de caras (Bockde et al., 2006). En un segundo estudio (Celone et al., 2006) publicado, también, con este tipo de análisis, a partir del estudio de una prueba de aprendizaje, los autores hallaron una relación no lineal en los patrones de activación en el continuum desde el envejecimiento normal hasta los estadios iniciales de EA. En concreto encontraron que existía una relación inversa entre un aumento de activación del hipocampo y regiones adyacentes y una disminución de activación en otras áreas temporo-parietales durante la realización de la tarea. Además, los sujetos DCL menos clínicamente afectados presentaron mayores incrementos en el hipocampo y mayores decrementos en las regiones temporo-parietales en comparación a los sujetos controles mientras que los más clínicamente afectados presentaron menores activaciones y desactivaciones respectivamente. Estos hallazgos son de alta relevancia porque reflejan que la regulación de la sincronía de la activación de los circuitos cerebrales y no sólo de áreas concretas está en relación con el estado clínico de los pacientes y por tanto potencialmente con su riesgo de conversión a demencia. Hasta el momento no obstante, no se han publicado estudios longitudinales en pacientes con DCL analizando la conectividad funcional cerebral.

Con la finalidad de ahondar en la comprensión de todos estos mecanismos cerebrales, actualmente es un área de máximo interés en investigación en neurociencia el estudio de las características cerebrales que confieren a determinadas personas una resistencia a la manifestación del daño cerebral asociado al envejecimiento o a los estadios iniciales de la demencia, ya que si se consiguen comprender los mecanismos específicos, podrán mejorarse las estrategias dirigidas a paliar el impacto del deterioro cognitivo en la edad avanzada.

### 1.3.- Reserva cognitiva, estructura y función cerebral en envejecimiento sano y patológico

En la literatura especializada, se han definido un conjunto de variables que parecen tener un claro efecto sobre la manifestación de síntomas clínicos y sobre el estado del cerebro. Parte de estas variables personales y educativas han sido conceptualizadas dentro del constructo de la reserva cognitiva o reserva cerebral (RC) (Stern 2002; Stern 2009).

El término de reserva cognitiva (RC, también denominado reserva cerebral) se acuñó a partir de las observaciones repetidas en dónde no existía una relación directa entre la severidad del daño cerebral y el grado de de afectación ante la realización de una determinada tarea cognitiva o el estado clínico de los pacientes (Satl 1993, Stern 2002). La RC fue estudiada en el caso de la enfermedad de Alzheimer (EA) y posteriormente en el envejecimiento normal, a partir de la observación de que existían personas sanas que al fallecer y ser sus cerebros estudiados anatómicamente, éstos presentaban lesiones neuropatológicas compatibles con el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer. Estos pacientes, no obstante, tenían en promedio cerebros de mayor tamaño que el resto de sujetos estudiados y los investigadores concluyeron que la mayor masa encefálica les protegía, creando una 'reserva cerebral' que retrasaba la aparición de los síntomas clínicos de la enfermedad aunque ésta estuviera ya avanzada, tal y como evidenciaban los resultados post-mortem.

Los estudios más conocidos dirigidos a investigar los mecanismos cerebrales subyacentes a los índices de RC lo conforman las publicaciones derivadas del 'estudio de las monjas', con centenares de participantes evaluados cognitivamente y clínicamente de forma anual y con donación de sus cerebros en el momento de su muerte. Estos trabajos demostraron que especialmente para los grupos más educados (o con mayores índices de RC), no existía una relación directa entre el grado de neuropatología en exámenes postmortem y la expresión clínica de la demencia en vida de los pacientes (Katzman y col., 1988). En este sentido, las personas con más educación, a pesar de presentar un daño más extenso en cuanto a patología propia de la EA (estadios avanzados de Braak y Braak), presentaban altos rendimientos en evaluaciones clínicas y cognitivas (Snowdon y col., 2003). A nivel morfológico estos pacientes se caracterizan por tener mayores volúmenes cerebrales totales (Katzman y col., 1988) y de áreas específicas como el hipocampo (Erten-Lyons y col., 2009, Valenzuela 2008)

El tamaño cerebral ha sido corroborado como variable de reserva cognitiva en estudios posteriores pero no en todos los trabajos (Staff y col., 2004). Existen otros factores tanto ambientales como biológicos que pueden ser considerados como RC y así ejercer una

influencia significativa sobre las manifestaciones clínicas y cognoscitivas de los procesos neurodegenerativos. Entre estas variables se han considerado, además del volumen cerebral total, años de educación formal, la ocupación (profesión), las actividades de ocio y deporte, la actividad social/intelectual desempeñada a lo largo de la vida así como determinados factores genéticos como el genotipo para el gen de la apolipoproteína E (Scarmeas y col., 2004; Riley y col., 2005; Mosconi y col., 2005, Stern, 2009).

Existe evidencia de estudios prospectivos y epidemiológicos indicando que, altos índices de variables de RC (como la educación, ocupación, o actividades de ocio), tienen un efecto protector en cuanto a la aparición de síntomas clínicos de demencia (Scarmeas, 2007). Por ejemplo, Valenzuela & Sachdev, (2005) en un estudio metaanalítico incluyendo 29.000 casos indican que la reducción del riesgo en cuanto a la manifestación de demencia para las personas con altos niveles de educación, actividad mental o ocupacional a lo largo de la vida se reduce hasta un 46%, en comparación con las personas con bajas puntuaciones en estas variables.

La introducción de las técnicas de neuroimagen estructural y funcional en el campo del estudio de la RC también ha aportado información muy valiosa. Un número creciente de trabajos, avalan que las variables de RC ejercen una influencia tanto sobre la estructura como la función cerebral medidas con técnicas de neuroimagen avanzadas, tanto en el envejecimiento sano, como en los estadios iniciales de la EA. Yaakov Stern (2002), el principal teórico de la RC, se ha basado en la información proporcionada por estas técnicas de neuroimagen para proponer su modelo que explica los mecanismos estructurales y funcionales cerebrales asociados a la RC en el envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer (EA). Su modelo, que recoge la evidencia científica de otros grupos y la propia, define un primer 'componente o hipótesis pasiva' de la RC y una 'hipótesis activa o funcional'.

El primero de ellos hace referencia a la influencia de las estructuras cerebrales y al número de neuronas o contacto sináptico entre ellas, es decir a los correlatos morfológicos cerebrales, en el sentido de que aspectos como el volumen cerebral total o regional conferirían la base anatómica subyacente a la RC, mientras que el componente activo considera la eficiencia del procesamiento sináptico o de las redes neurales o la capacidad de la utilización de redes cerebrales alternativas que permitiría seguir funcionando a un determinado nivel clínico o cognitivo ante el avance de una determinada patología cerebral. El estudio del primer tipo de reserva cognitiva, el componente pasivo, se ha enfocado especialmente a partir de las investigaciones de la anatomía patológica o mediante estudios de neuroimagen estructural.

En estos trabajos se ha comprobado que los pacientes con EA con un mayor grado de educación o actividad intelectual a lo largo de sus vidas presentan mayor atrofia cerebral (Kidron y col., 1997; Solé-Padullés y col., 2009) y más cambios microscópicos propios de la enfermedad (ovillos neurofibrilares y placas seniles) en comparación con pacientes con EA clínicamente comparables pero con menos niveles de reserva cognitiva. Estos resultados reflejan una mayor 'resistencia cerebral' (evidenciada por un funcionamiento clínico al mismo nivel) en las personas con mayor RC a pesar de sufrir un proceso neurodegenerativo más avanzado (Kidron y col., 1997; Silver y col., 2002; Riley y col. 2002). Otros trabajos, muestran una evolución clínica más rápida (Wilson y col., 2000; Stern y col., 1999; Scarmeas y col., 2006; Helzner y col., 2007) y por tanto una mayor incidencia de mortalidad y una pérdida de memoria más acelerada entre los pacientes de EA de alta reserva cognitiva reflejando en la misma línea de los artículos mencionados con anterioridad, que el proceso neuropatológico se encontraba más avanzado en estos pacientes.

El estudio del componente activo de la RC no pretende establecer qué características cerebrales estructurales posee el paciente con una mayor reserva cerebral sino cómo funciona su cerebro y qué estrategias alternativas utilizar para permitir al paciente seguir rindiendo a un determinado nivel clínico y cognitivo a pesar del proceso patológico subyacente. El empleo de técnicas de neuroimagen funcional como la tomografía por emisión de positrones (TEP) o la resonancia magnética funcional puede ayudar de forma determinante a explicar la falta de relación entre la severidad del daño cerebral y el funcionamiento clínico de los pacientes a partir del estudio de la actividad cerebral. En la actualidad los trabajos utilizando TEP para investigar los efectos de la RC en la enfermedad de Alzheimer son escasos y la mayoría de ellos se han realizado en estado de reposo, es decir recogiendo la actividad cerebral de los pacientes mientras estos estaban en silencio, con los ojos cerrados y sin realizar ningún tipo de esfuerzo o tarea cognitiva. Estos trabajos indican que el metabolismo cerebral regional de la glucosa en pacientes con mayores niveles de RC se encuentra disminuido respecto a los pacientes clínicamente comparables (Pernecky y col., 2006), sugiriendo que los pacientes con más reserva cognitiva precisan de menores recursos energéticos para mantener sus cerebros en funcionamiento (actividad de reposo) (Stern y col., 1992; Scarmeas y col., 2003). Los trabajos realizados con técnicas de neuroimagen funcional en condición de activación se centran en el estudio, como pueden ser pruebas de aprendizaje y memorización en el caso de la EA. En un trabajo de Scarmeas y colaboradores (2003) observan que durante una tarea de memorización de formas visuales las personas jóvenes con alta RC difieren en sus patrones de actividad cerebral respecto a las personas envejecidas también con alta RC durante la

memorización de las formas visuales, sugiriendo que a medida que avanza la edad se utilizan redes neurales alternativas para compensar los efectos fisiológicos de la edad.

Y cómo se describía anteriormente, otra técnica que permite el estudio de la utilización de los recursos neurales ante la realización de una determinada tarea cognitiva es la resonancia magnética funcional (RMf). Estudios recientes efectuados utilizando esta técnica en distintas condiciones neurológicas parecen indicar que la presencia de daño cerebral se relaciona con activaciones de regiones cerebrales suplementarias durante la realización de un esfuerzo cognitivo, sugiriendo que el cerebro de los pacientes con determinada afectación precisa utilizar más recursos para rendir a un nivel comparable. Estos datos se han observado en la EA, en pacientes con SIDA y demencia (Chang y col., 2004), en pacientes con enfermedad cerebrovascular (Foltys y col., 2003) y en envejecimiento normal, en personas portadoras del alelo e4 de la apolipoproteína E (Bookheimer y col., 2000).

A pesar de estos trabajos, son pocos los estudios que han investigado el efecto de las variables de RC al funcionamiento cerebral, estado clínico de los pacientes y relación con la evolución de la EA. De hecho, existen diversas controversias respecto a la significación de los estudios de activación mediante RMf realizados en la EA que podrían ser en parte explicados si se toman en cuenta los aspectos ligados a la RC de los pacientes. Así, mientras unos trabajos reflejan mayor activación cerebral ante la realización de tareas en la EA respecto a sujetos control, otros estudios, indican una menor activación en regiones como el lóbulo temporal medial, primariamente afectadas en la enfermedad (Sperling y col., 2003). En este sentido pues, se desconoce de forma clara el significado de las anomalías en activación cerebral en el caso de la EA y cómo estas se relacionan con el perfil clínico de la enfermedad. Aunque no se ha estudiado hasta la fecha, la hipótesis de la reserva cognitiva sugiere que aquellos casos en donde la RC sea elevada (y por tanto permita rendir a un determinado nivel clínico a pesar del proceso patológico) existirá una máxima 'compensación' cerebral y se observará un incremento de la activación ante la realización de una tarea de demanda cognitiva. En el caso de los pacientes con menor reserva, sin embargo, a activar menos regiones cerebrales ante la realización de una tarea de demanda cognitiva por no disponer de suficiente RC que permita compensar mediante activaciones adicionales.

Y si los trabajos considerando las variables de RC en relación a la activación cerebral, el perfil clínico y cognitivo en la EA son muy escasos, lo mismo sucede en condiciones próximas como el deterioro cognitivo leve (DCL, Petersen y col., 1999). En la actualidad existen pocos trabajos realizados utilizando RMf en pacientes con DCL. En un estudio se encontró que los



pacientes con deterioro cognitivo leve tienden a activar menos que los sujetos controles el hipocampo ante el aprendizaje de nuevos estímulos presentados por vía visual (Machulda y col., 2003) mientras que en otro trabajo se observó que los pacientes clínicamente más afectados tendían a activar más el giro hipocampal ante el aprendizaje (Dickerson y col., 2004). Como se ha descrito anteriormente, estos datos a primera vista contradictorios, podrían ser parcialmente explicados si se tiene en cuenta los parámetros de reserva cerebral de los pacientes DCL. Hasta el momento, ningún trabajo ha estudiado si la actividad en el patrón de DMN es modulado por las variables de RC.

En nuestro grupo recientemente (Solé-Padullés y col. 2009) observamos que a partir de análisis morfológicos de imágenes de RM, como describe Valenzuela y col. (2008), aquellas personas con alta RC presentan mayores volúmenes cerebrales y menor pérdida del volumen del hipocampo a lo largo del tiempo, respectivamente. Funcionalmente, y en la misma línea que el grupo de Stern, quienes han puesto de manifiesto en una serie de trabajos cómo ocurre una reorganización de las redes cerebrales en función de los índices de RC según se avanza desde edades jóvenes, hacia el envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer (Scarmeas y col., 2003; Scarmeas y col., 2004; Stern y col., 2005); también hemos observado una mayor eficacia en el uso de los circuitos cerebrales ante demandas cognitivas tanto ante tareas de aprendizaje (Solé-Padullés y col. 2009) como durante el procesamiento de memoria de trabajo (Bartrés-Faz y col., 2009) para las personas con altos índices de RC, incluyendo los casos con EA leve en el caso del aprendizaje.

En estos estudios previos, en los que incluimos sujetos control, y pacientes con DCL-a y EA, observamos una mayor correlación entre las puntuaciones de RC y la función cognitiva medida con RMf, que la que se encuentra con atrofia de SG. Estas correlaciones se observan principalmente en áreas comprometidas en fases iniciales de la EA aprendizaje (Solé-Padullés y col. 2009) y en las zonas que reflejan los cambios típicos relacionados con la edad en ancianos sanos (Bartrés-Faz y col., 2009).

Estos resultados proporcionan apoyo para el modelo activo de RC, que postula que los pacientes con alta RC pueden compensar el daño cerebral por un uso más eficiente de redes neurales que subyacen al rendimiento cognitivo (Stern, 2009). Sin embargo, los resultados también sugirieron la necesidad de estudiar sustratos anatómicos más sensibles relacionados con este constructo. Uno de estos sustratos estructurales cerebrales podría ser el estado de la sustancia blanca, como de hecho, estudios recientes indican que la educación y la capacidad aeróbica, que son dos de las variables comúnmente incluidas en las evaluaciones de RC, están

asociadas con el volumen de sustancia blanca en ancianos sanos (Colcombe y col., 2003; Gordon y col., 2008). Además, los resultados de dos estudios independientes, en los que se incluyeron grandes muestras de ancianos reveló que la patología de SB, como se refleja en medidas de RM estudiando hiperintensidades de sustancia blanca (HSB), se relacionó con menor rendimiento cognitivo entre los ancianos con bajo nivel educativo, mientras que los individuos altamente educados realizaron mejor las evaluaciones cognitivas y no mostraron modulación negativa de las HSB, lo que implica una mayor tolerancia de su cerebro frente al daño estructural, minimizando las manifestaciones cognitivas (Defouil y col., 2003; Nebes y col., 2006). Hasta dónde sabemos, solo un trabajo ha examinado la asociación entre medidas de RC y integridad de SB en ancianos sanos y pacientes con EA (Teipel y col., 2009).

En resumen, estos estudios de neuroimagen en personas de edad avanzada sanos y en estadios iniciales de demencia indican que el nivel de implicación a lo largo de la vida en actividades de tipo mental o intelectual, social y físico modula la estructura y función del cerebro. Sin embargo, el nivel de conocimiento científico generado en este campo es todavía muy parcial. Así, la finalidad de la presente tesis fue estudiar los correlatos anatomofuncionales cerebrales que mediatizan el efecto de las denominadas variables de reserva cerebral o reserva cognitiva (RC) en el envejecimiento sano y patológico.



## 2.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS

## 2.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Este proyecto de tesis doctoral se centra en el estudio de los correlatos estructurales y funcionales de la RC mediante RM en envejecimiento sano y patológico (DCL-a y EA).

La razón para centrarse en estos tres grupos se basa en el interés por explorar como la RC permite a los individuos hacer frente al daño fisiológico y patológico, tanto en cerebros de personas normales mayores como en cerebros de pacientes que presentan un deterioro cognitivo leve o etapas iniciales de la demencia.

### **Objetivos específicos:**

#### **ESTUDIO I: Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance**

- Investigar las áreas que experimentan cambios en la AF en el envejecimiento 'fisiológico' y 'patológico' para posteriormente (estudio II) ver si existen correlatos diferenciales con la Reserva Cognitiva.
- Estudiar los cambios de los distintos índices en las áreas que experimentan cambios tanto el envejecimiento 'fisiológico' como el envejecimiento 'patológico'.
- Estudiar el significado clínico de estos cambios.

### **HIPOTESIS:**

Los pacientes con DCL-a y EA mostraran diferencias en la integridad de la SB respecto al grupo control. Las diferencias observadas podrían comportarse como buenos marcadores del estado clínico y cognitivo en DCL-a y EA.

#### **ESTUDIO II: Specific anatomical associations between white matter integrity and cognitive reserve in normal and cognitively impaired elders**

- Investigar la relación entre las variables de RC y la integridad de la sustancia blanca.
- Investigar si existe una especificidad anatómica para esta asociación (relación RC y SB) cuando se considera el envejecimiento sano vs. el envejecimiento patológico, partiendo de las áreas identificadas en el Estudio I.

HIPOTESIS:

Las variables de RC se asociaran a la integridad de la de SB tanto en envejecimiento sano como patológico, generando una mayor tolerancia a su daño. La RC generará una mayor resistencia frente al daño de SB, minimizando las manifestaciones cognitivas; pudiendo existir una especificidad anatómica en envejecimiento normal y patológico en distintas áreas cerebrales.

**Estudio III: Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease**

- Estudiar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de tipo pasivo, preservada en los pacientes.

HIPOTESIS:

La reorganización funcional asociada a la RC acontecerá incluso a funciones cognitivas preservadas clínicamente.

La RC modulará las desactivaciones de la DMN.

**ESTUDIO IV: Greater default-mode network abnormalities compared to high order visual processing systems in amnesic MCI. An integrated multi-modal MRI study. Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuoperceptive network among a-MCI.**

- Investigar mediante RMf si existe disfunción de activación o desactivación en la red cerebral que subyace al procesamiento visual complejo en pacientes con DCL-amnésico.
- Caracterizar, a través de una aproximación multimodal de RMf, observando la atrofia cortical y la integridad de SB, la relación entre los cambios funcionales y estructurales en el DCL-a.
- Investigar el papel de la RC sobre los cambios observados en una red funcional clínicamente preservada.

HIPOTESIS:

Los cambios funcionales observados en el DMN serán de mayor magnitud que los detectados durante la realización de una tarea preservada. La RC es capaz de modular estos cambios.

### 3.- MÉTODO



### 3.- MÉTODO

La presente tesis consiste en cuatro estudios, prospectivos transversales, que examinan cómo las bases neuroanatómicas y neurofuncionales de la RC modulan tanto la estructura como la función cerebral en envejecimiento sano y patológico.

Cada uno de los estudios cuenta con una descripción detallada de las características de las muestras, la metodología de análisis de las imágenes obtenidas por RM y las evaluaciones cognitivas y conductuales llevadas a cabo. Los aspectos metodológicos más relevantes se presentan a continuación:

#### 3.1.- Muestra

En la presente tesis se seleccionó a los pacientes en función de su diagnóstico clínico. Para ello se estudió una única muestra evaluada a nivel clínico, neuropsicológico y con distintas técnicas de resonancia magnética.

Los pacientes incluidos en los distintos estudios fueron reclutados de forma prospectiva desde la Unidad de Alzheimer y otros trastornos cognitivos, del Servicio de Neurología, del Hospital Clínic de Barcelona. Los sujetos control eran acompañantes cognitivamente sanos de los pacientes de la unidad.

La muestra estaba formada por sujetos sanos, pacientes con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCL-a) (la memoria era el único dominio afectado, actividades de la vida diaria (ADL) preservadas) y pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer en estadio inicial (EA, *NINCDS-ADRDA*, *GDS=4*). Todos los sujetos presentaron dominancia manual diestra, y fueron informados de los objetivos de cada uno de los estudios, manifestando su acuerdo rellenando y firmando una hoja de consentimiento informado aprobada por el comité ético de investigación del Hospital Clínic de Barcelona. Para cada uno de los estudios varió levemente el número de sujetos, cómo se detalla en la tabla inferior. Además, en el estudio II se incluyó un grupo de sujetos sanos únicamente con el objetivo de aislar las áreas de cambio de SB en envejecimiento fisiológico (ver métodos estudio II).

El diagnóstico de EA fue establecido por un comité clínico interdisciplinar formado por dos neurólogos y un neuropsicólogo. Los criterios *NINCDS-ADRDA* fueron aplicados a partir de los resultados clínicos, funcionales y neuropsicológicos. Todos los pacientes con EA incluidos estaban en un estadio leve de la enfermedad (*Global Deterioratio Scale=4*). Las variantes

atípicas de EA con un deterioro no significativo de la memoria episódica fueron excluidas de los estudios.

Número de estudio	Características de la muestra de estudio	Secuencia de imagen	Técnica/Herramientas utilizadas para el análisis de las imágenes	RC(Relación de SB con:)
<i>Estudio I</i>	15 Controles mayores sanos 16 Pacientes con DCL-a 15 Pacientes con EA N=46	MPRAGE DTI	Volumen de SG (FSL) Índices de SB: AF, DA, DR y DM Herramientas: DTIFIT y TBSS (FSL) NPSICO	
<i>Estudio II</i>	18 Controles jóvenes 15 Controles mayores sanos 16 Pacientes con DCL-a 15 Pacientes con EA N=64	MPRAGE DTI	Volumen de SG (FSL) Índices de SB: AF Herramientas: DTIFIT y TBSS (FSL) NPSICO	Integridad de la SB cerebral
<i>Estudio III</i>	15 Controles mayores sanos 15 Pacientes con DCL-a 15 Pacientes con EA N=45	MPRAGE RMf	Volúmenes de SG (SPM5) tarea de lenguaje (SPM5)_standard univariate analysis. Interacciones_BPM	Activación y desactivación cerebral durante procesamiento lingüístico
<i>Estudio IV</i>	15 Controles mayores sanos 15 Pacientes con DCL-a N=30	MPRAGE DTI RMf	Volumenes SG_ROI (FSL) Índices de SB: AF Herramientas: DTIFIT y TBSS (FSL) tarea visual (ICA_FSL) NPSICO Estudio multimodal	Activación y desactivación cerebral durante procesamiento visual

## Los criterios de inclusión para cada uno de los grupos de estudio fueron los siguientes:

### *Grupo control*

Sujetos con rendimiento cognitivo normal (al menos por encima de -1 desviación estándar de acuerdo a las normas por edad y educación) en la exploración neuropsicológica  
Ausencia de quejas de pérdida de memoria.  
Ausencia de demencia de acuerdo con criterios NINCDS-ADRDA y puntuaciones en el test Mini-Mental State Examination (MMSE) (Folstein, 1975) superiores a 24. Puntuaciones superiores a 37 en el test de cribaje del T@M (Rami et al., 2007)  
Normalidad en las actividades de la vida diaria de acuerdo con puntuaciones de 0 a 3 en el Functional Activities Questionnaire (FAQ, Pfeffer et al., 1982).

### *Grupo DCL de tipo amnésico*

Quejas de pérdida de memoria preferentemente corroboradas por un informador o un clínico.  
Puntuaciones iguales o inferiores a -1.5 DE en pruebas de memoria episódica verbal de acuerdo con datos normativos por edad y educación (FCSRT: (Buschke et al.; 1973, Grover et al.; 2000)  
La alteración de la memoria representa un deterioro respecto un nivel  
Normalidad clínica (puntuaciones por encima de -1 DE según normas por edad y educación) en las restantes funciones cognitivas evaluadas.  
Normalidad en las actividades de la vida diaria según una puntuación no superior a 3 en la escala GDS y en el cuestionario de actividad funcional de Pfeffer (FAQ) (Pfeffer et al., 1982).  
Ausencia de demencia según criterios NINCDS-ADRDA y una puntuación en el test MMSE superior a 24.

### *Pacientes con enfermedad de Alzheimer*

Diagnóstico de EA probable de acuerdo con los criterios NINCDS-ADRDA  
Afectación clínica leve según una puntuación de 4 en la escala GDS.  
Memoria alterada según test FCRST más otra prueba cognitiva afecta.  
Interferencia funcional en las actividades de la vida diaria de acuerdo con la escala de deterioro global (Global Deterioration Scale, GDS) y puntuaciones >6 en el cuestionario FAQ.

### Los criterios de exclusión para todos los sujetos controles y pacientes fueron los siguientes:

Presencia de depresión clínicamente significativa de acuerdo con una puntuación de 15 o superior en la escala de ansiedad y depresión: HAD  
Edad inferior a 65 años.  
Pacientes o sujetos controles sin escolarización o con un cociente intelectual estimado inferior a 7 según las puntuaciones escalares del subtest de vocabulario de la escala de inteligencia de Wechsler tercera versión (WAIS-III).  
Historia de traumatismo craneoencefálico o cualquier afectación neurológica o intervención neuroquirúrgica  
Afectación neurológica compatible con TIA o accidente cerebrovascular, o evidencia radiológica de infarto.  
Ausencia de enfermedades psiquiátricas, sistémicas o neurológicas que puedan explicar el deterioro cognitivo.  
Ligados a la RM: Fueron eliminados de la muestra los pacientes con presencia de objetos metálicos en la cabeza, marcapasos o claustrofobia y puntuación > 0 = a 3 en la escala de Fazekas.

Resumidamente, los sujetos sanos no cumplían criterios de demencia, y no presentaban quejas de tipo cognitivo. Además, no mostraban una ejecución inferior a -1.5 DS en el test de memoria episódica, mientras que, en cuanto a las funciones cognitivas, se encontraban entre los límites adecuados para edad y nivel educativo. DCL-a la memoria era el único dominio afectado, puntuaciones por debajo de -1,5 DE en una prueba de memoria episódica (prueba de recuperación a largo plazo de la FCRST: libre y con pistas semánticas), tal y como se define por el hecho que sus funciones cognitivas restantes y las actividades de la vida diaria dentro del rango de la normalidad de acuerdo con las puntuaciones obtenidas en el Functional Activities Questionnaire (FAQ, Pfeffer et al., 1982).

Después de unos dos años de promedio, todos los sujetos DCL-a fueron reevaluados clínica y cognitivamente para determinar si habían progresado a demencia o se habían mantenido estables.

### **3.2.-Evaluación clínica y neuropsicológica**

Junto con el juicio clínico del neurólogo, la exploración neuropsicológica desempeñó un papel relevante en la clasificación de los sujetos y permitió realizar el diagnóstico diferencial entre pacientes con DCL-a y EA.

A todos los sujetos se les administró una batería de pruebas neuropsicológicas para establecer el grado de déficit cognitivo y el número de áreas afectadas que presentaban los pacientes y determinar si estos cumplían los criterios de inclusión para los distintos estudios. La batería incluía pruebas de memoria, lenguaje, praxias, percepción visual, funciones ejecutivas frontales y atención (Lezak y col., 2004) y además se recogieron datos sociodemográficos. En todos los casos posibles se utilizaron pruebas neuropsicológicas validadas que disponen de una normalización en población sana y que permiten situar al sujeto en relación con su grupo de edad y nivel de escolaridad para conseguir homogeneizar el grupo de pacientes con DCL-a.

#### **La evaluación neuropsicológica consistía en las siguientes pruebas:**

**FUNCIONAMIENTO COGNITIVO GLOBAL:** I) MMSE para evaluar globalmente las capacidades cognitivas; II) Subtest de Vocabulario de la escala Weschler de Inteligencia para adultos (WAIS-III) para estimar el cociente intelectual premórbido.

**MEMORIA:** I) T@M (Rami y col., 2006) para detectar a modo de cribado alteraciones de memoria asociadas a la demencia. II) Test de memoria libre y selectivamente facilitado (FCSRT; Grober y col., 2000) para evaluar la memoria episódica verbal (aprendizaje facilitado y recuerdo demorado); III) Lista de aprendizaje y retención de palabras de la batería CERAD (aprendizaje y reconocimiento de la información) (Morris y col., 1989); IV) Test de memoria de dibujos de la batería CERAD; V) Figura compleja de Rey (Rey., 1997) ; VI) Fluencia verbal con consigna semántica (animales) para estudiar la memoria semántica verbal; VII) Dígitos directos e inversos (escala de inteligencia de Weschler 2004) para evaluar la memoria de trabajo.

**LENGUAJE:** I) Prueba de denominación de la batería Boston para afasias; II) Test de comprensión de la misma batería Boston para afasias para descartar alteraciones de la comprensión de órdenes simples y complejas.

**PRAXIAS:** I) Copia de dibujos de la batería CERAD; II) Copia de la figura compleja de Rey; III) Imitación de gestos manuales de la batería Western para afasia para la valoración de las praxias ideomotrices por imitación (Golden y col., 1980).

**FUNCIONES VISUOPERCEPTIVAS Y VISUOESPACIALES:** I) Subtest de percepción de letras y localización de números de la batería VOSP (Batería de Percepción espacial y visual de objetos) para examinar las funciones visuoperceptivas y visuoespaciales (Warrington y col., 1991); II) Poppelreuter; III) Test digital de percepción: test recientemente diseñado y validado que se muestra útil para valoración de trastornos visoperceptivos en la EA inicial, baremado en población española y que permite una buena discriminación entre los sujetos controles, DCL y casos iniciales de EA (Rami y col., 2007).

**FUNCIONES EJECUTIVAS Y ATENCIÓN:** I) Test de fluencia verbal fonética (FAS)(Borkowski y col., 1967); II) Test de semejanzas (escala de inteligencia de Weschler) para valorar el pensamiento abstracto verbal ; III) Clave de números (escala de inteligencia de Weschler); IV)Test del trazo-parte (TMT-A; Reitan., 1958) para evaluar la atención y la velocidad visuomotora .

**OTRAS VARIABLES:** I) FAQ: Valoración del grado de dependencia en las actividades instrumentales de la vida diaria ; II) HAD para valorar ansiedad y depresión; III) Variables de RC.

Para el estudio 3 y 4 se controló que los sujetos incluidos en la muestra realizaran los Test de comprensión de la batería Boston para afasias y el Test digital de percepción dentro de los límites de la normalidad en estas pruebas en papel (respectivamente) para poder objetivar que esta función cognitiva estaba preservada a nivel neuropsicológico para todos los sujetos y en el segundo caso, también, para poder adaptar la tarea al contexto de la RMf.

Para realizar las correlaciones con los distintos índices de DTI, se generaron distas puntuaciones compuestas (COMPOSITES) de las variables cognitivas de memoria, lenguaje, funciones ejecutivas, funciones visuoperceptivas y visuoespaciales. Estas variables reflejan los valores medios para cada una de las puntuaciones estandarizadas de las pruebas neuropsicológicas incluidas en cada caso, para cada área. Los resultados de las comparaciones entre grupos se especifica en cada uno de los estudios entre los distintos grupos que los componen.

La siguiente tabla recoge las pruebas neuropsicológicas a partir de las que se generaron distintas puntuaciones compuestas para cada área cognitiva evaluada en los pacientes y controles del estudio.

Composite memory	Composite 'frontal'	Composite language	Composite Visuoceptive/visuospatial	Praxis
<i>Recall of Constructional Praxis CERAD</i>	<i>Digit span _I (WAIS-III)</i>	<i>BNT</i>	<i>Incomplete Letters VOSP</i>	<i>Ideomotor praxis</i>
<i>Free recall (FCSRT)</i>	<i>Symbol search (WAIS-III)</i>	<i>BDAE comprehension</i>	<i>Number location VOSP</i>	<i>Constructional praxis CERAD</i>
<i>Long term retrieval(FCSRT)</i>	<i>COWAT</i>		<i>PDT score</i>	
	<i>Similarities (WAIS-III)</i>			

### 3.3.- Variables de Reserva cognitive

Se definieron tres medidas principales de RC, tomando como base aquellas más utilizadas en la literatura y en los previos estudios del grupo (Solé-Padullés y col., 2007; Bartrés-Faz y col., 2009). La primera medida fue el IQ premórbido (Lezak y col., 1994) recogido a través del subtest de Vocabulario de la tercera edición del Wechsler Adult Intelligente Scale (WAIS-III). La segunda variable de RC fue definida como “educación-ocupación” incluyendo las cuantificaciones de un estudio previo (Staff y col., 2004): 0= no educación formal, 1= educación primaria, 2= educación secundaria y 3= educación superior o universidad. En cuanto a la ocupación: 0= no cualificado, 1= cualificado no manual o técnico, 3= profesional (grado universitario), 4= manager o director (grado universitario). El valor final fue obtenido sumando los valores de educación y ocupación (0-7). La tercera y última medida de RC fue definida para tener en cuenta otra variables relativas a la RC (Scarmeas, 2007). Esta parte incluye las actividades de ocio e intelectuales que el sujeto ha desempeñado en su vida (leer, escribir, tocar música, pintar), así como las actividades físicas (deporte y caminar diariamente) y las actividades de la vida social (participación social en actividades grupales, asociaciones, trabajo voluntario). Estas medidas se unieron en un cuestionario personalizado con una puntuación desde 0 a 19, siendo la más alta puntuación la que indicaba una mayor RC. El cuestionario fue administrado directamente los sujetos participantes en el estudio con la presencia de sus familiares en el caso de pacientes para asegurar la validez de los datos recogidos. Finalmente, para sumar la información relativa a las tres variables se obtuvo una puntuación compuesta de RC para cada sujeto utilizando un análisis factorial (método de componentes principales) siguiendo el procedimientos descrito por Stern y col. (2005).

Finalmente, estas variables de reserva cognitiva se relacionaron con los patrones de actividad y la estructura cerebral en muestras de envejecimiento patológico (DCL y EA) y no patológico (envejecimiento sano) para estudiar en qué medida determinada carga de RC puede afectar en el funcionamiento (o manera de trabajar del cerebro) y el grado de atrofia de éste en las distintas condiciones clínicas de envejecimiento normal y patológico citadas anteriormente.

### **3.4.- Adquisiciones de resonancia magnetica**

Todos los participantes de los distintos estudios fueron explorados con una secuencia que permitió una adquisición en 3D de alta resolución anatómica del cerebro (MP RAGE), una Imagen por tensor de difusión y dos secuencias de RMf. Las imágenes se adquirieron en un equipo Siemens Magnetom Trio de 3.0 Tesla (Siemens Medical Systems, Erlangen, Alemania) ubicado en el Centre de Diagnòstic per la Imatge (CDIC) del Servicio de Radiología del Hospital Clínic de Barcelona.

Los parámetros de adquisición de las imágenes de RM fueron los siguientes:

#### ***RM anatómica (T1 weighted MP RAGE (3D))***

Con la finalidad de investigar si las variables de RC en interacción se relacionaban con los patrones de atrofia de la sustancia gris cerebrales en los distintos grupos de estudio, y para corregistrar con las imágenes de la RMf y de DTI, todos los casos fueron explorados con una secuencia que permitió una adquisición en 3D de alta resolución anatómica del cerebro (MPRAGE [Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo]), TR=2300 ms; TE=2.98 ms, tamaño del voxel 1x1x1, TI (Tiempo de Inversión)= 900; FOV= 100 x 100 cm; tamaño de la matriz= 256 x 256; 240 volúmenes cada uno de 36 cortes con un grueso de 1mm y sin espacio intercorte), Flip angle = 9°. El tiempo de adquisición de esta secuencia fue de aproximadamente 7 minutos.

### ***RM por tensor de difusión***

El procesamiento de las imágenes de RM de difusión, a partir de los índices de SB (AF, DA, DR y DM) permitió el estudio de la estructura de la sustancia blanca y determinar su integridad en general así como de determinados tractos. De todos los voluntarios y pacientes del estudio se adquirió una secuencia de RM por DTI con las siguientes características: EPI spin-eco, TR=5600 ms; TE=89 ms, tamaño del voxel de 2x2x2, 49 cortes, 30 direcciones; slice thickness=2 mm; distance factor=30%, FOV=100 mm, matrix size=122x122. El tiempo total de adquisición de fue de aproximadamente 9 minutos.

**DWI-T2 ponderado por volumen (B=0)**, (imagen de baja resolución por estar incluida en la secuencia de imágenes de DWI) fue utilizada para excluir a los participantes con evidencia de enfermedad cerebrovascular, basado en la evaluación de hiperintensidades de sustancia blanca. En concreto, una neurorradióloga certificada puntuó todas las imágenes usando la escala de Fazekas (Fazekas et al., 1987). En nuestra muestra se observaron algunas anomalías, probablemente relacionadas con la edad, ya que todos los sujetos obtuvieron puntuaciones entre 1-2 en esta escala.

### ***RM funcional (RMf)***

Todos los participantes voluntarios y pacientes del estudio fueron investigados durante la realización de dos tareas cognitivas (tarea de lenguaje (ver método art. III) y tarea de procesamiento visual complejo (ver método art. IV)) en el contexto de la RM funcional. Para el diseño de las tareas de RMf se utilizó un diseño de bloques que consistía en la alternanza de tres condiciones ('tarea'-'control'-'reposo'). Las secuencias de adquisición tuvieron las siguientes características: EPI de gradiente, TR (tiempo de repetición)=2000 ms, TE= (tiempo de eco)= 29 ms, 36 cortes de 3 mm de grosor con un intercorte de 3,75 mm. fov= 100; tamaño de la matriz= 128 x 128; percentage phase field of view = 240mm; distance factor=25%; flip angle = 90°. Para la presentación de los estímulos visuales se utilizó el programa Presentation 10.2 (Neurobehavioral Systems) y un sistema de gafas adaptadas a la RM instaladas en las facilidades de la RM en nuestro centro. Las respuestas conductuales a la realización de la tarea se realizaron a través de la pulsación de botones de un sistema de respuesta preparado para este uso.

Las dos tareas se centraron en dos ámbitos cognitivos preservados: la comprensión del lenguaje y la función visual.

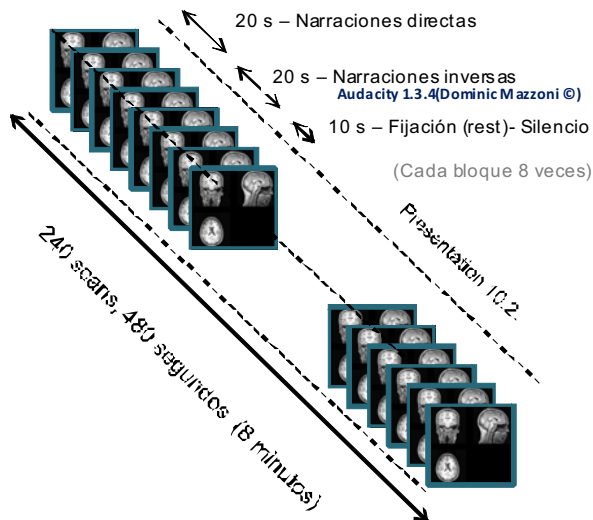


## **TAREA DE COMPRESIÓN DEL LENGUAJE**

Utilizamos una tarea de RMf previamente empleada en nuestro grupo, con una muestra de sujetos jóvenes (Fernández-Espejo y col., 2008) y adaptado según lo propuesto por Dehaened-Lambertz y col. (2002) , no obstante, se realizaron estudios piloto para determinar la adecuación de las dificultades de la tarea en participantes de cada grupo y modificar sus características.

Esta tarea consiste en una escucha pasiva de ocho narrativas habladas (20 segundos) presentadas directamente, inversamente y alternando con períodos de silencio. Se realizó un diseño de bloques con una longitud total de 8 minutos. Las narrativas incluían eventos cotidianos con contenido emocional neutro y sin contenidos significativos. Estas narraciones eran leídas por una voz femenina, castellano parlante con una entonación dinámica y utilizando el freeware software Audacity 1.3.4 (<http://audacity.sourceforge.net>). Las narraciones inversas, equivalían a las originales en términos de complejidad física y características acústicas como amplitud y espectro pero violaban muchas propiedades fonológicas de segmentación y suprasegmentación del habla humana (Dehaene-Lambertz et al., 2002; Binder et al., 2000). Estas características, hacen del discurso invertido una condición de control ideal, para los aspectos no lingüísticos del habla. Los estímulos fueron presentados usando el software de Presentation (Presentation v.10.1 Neurobehavioural Systems) en Windows XP y con un sistema de alta calidad de sonido compatible con RM e incorporando auriculares atenuadores del ruido (VisuaStim Digital, Resonance Technology, Inc). Con el scanner de RMf, a los sujetos sanos y pacientes se les indicó que escucharan las narrativas sólo intentando entenderlas (lo que era únicamente posible cuando la narración era directa) y que no realizaran nada. A pesar de que no registramos las respuestas durante la realización de la tarea, todos los pacientes demostraron que tenían la comprensión del lenguaje preservada en el Auditory Comprensión subtest del Boston Diagnostic Aphasia Examination (BDAE, Goodglass and Kaplan, 1983) y manifestaron que entendían el significado de las frases en las pruebas piloto realizadas de forma previa a las adquisiciones de RMf.

## Tarea de lenguaje



### DISEÑO DE BLOQUES:

#### ‘Condición experimental’:

Discurso natural:

- 8 Narrativas habladas de eventos diarios
- Mujer castellano parlante
- Ej: **Me encanta ir a la playa en primavera**

#### ‘Condición de Control’ :

Discurso invertido:

- Ej: **Arevamirp ne ayalp al a ri atnacne em**

#### ‘Bloque de reposo’ :

Períodos de silencio

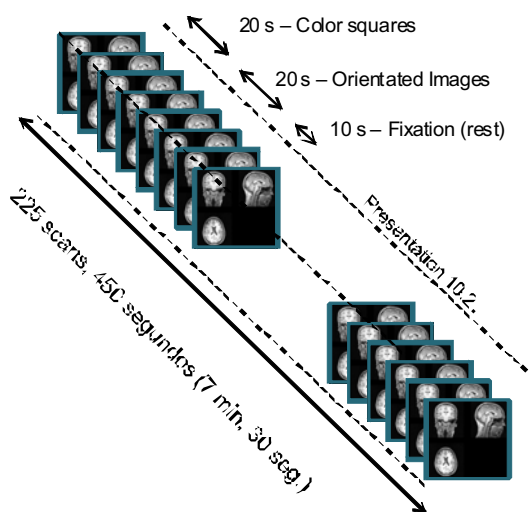
## TAREA DE PROCESAMIENTO VISUAL COMPLEJO

Se realizó mediante la adaptación del *Test digital de percepción (TDP)*. Se utilizó el paradigma de diseño de bloques que consta de tres condiciones a alternar. Durante la ‘condición experimental’ (10 exploraciones, duración: 20 segundos) se presentó a los sujetos 15 fotografías degradadas de tal forma que resulta complicado su reconocimiento. Cada fotografía se presentaba en 4 posiciones diferentes del campo visual simultáneamente (correctamente orientada (colocada aleatoriamente), rotada 90° hacia la izquierda, rotada 90° hacia la derecha y rotada 180°). Después de la correcta identificación del contenido de la imagen, se les pidió a los sujetos que respondieran a través de una botonera si la fotografía que estaba orientada correctamente en el espacio estaba situada a la derecha o a la izquierda de la pantalla presionando el botón correspondiente. Para dar una respuesta la tarea requería una correcta identificación del contenido de la imagen borrosa. Durante la ‘tarea control’ (10 exploraciones, duración: 20 segundos): Se presentaron dibujos de cuadrados de cuatro colores diferentes (rojo, azul, verde o amarillo) de forma aleatoria en la disposición espacial de las imágenes de los estímulos de la tarea. Presionando la botonera los sujetos respondían si el cuadrado rojo estaba situado a la derecha o a la izquierda de la pantalla.

Por último también se presentó un 'bloque de reposo' (5 exploraciones, duración: 10 segundos) que consistía en la presentación de la pantalla del ordenador en negro con una pequeña cruz blanca en el centro. Antes de la sesión de exploración se dieron las instrucciones a los sujetos, por lo tanto, no hubo instrucciones por escrito durante la tarea. El número de respuestas derecha/izquierda fue equivalente para la condición experimental y control.

En total se realizaron 3 bloques presentando el orden de los estímulos de la condición experimental y control aleatorizados en cada caso. La duración de los estímulos fue de 4 segundos con un intervalo íterbloque de 10 segundos. Todo el paradigma incluía 9 repeticiones de la tarea. En total se adquirieron 225 imágenes cerebrales completas durante 7 minutos y 30 segundos (450 s).

### Tarea visuoperceptiva

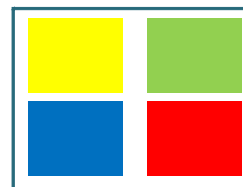


- CONDICIÓN EXPERIMENTAL



TDP (Rami, et al., 2007)

- CONDICIÓN CONTROL



- CONDICIÓN REPOSO

### 3.5.- Análisis de las imágenes de RM

El análisis de las imágenes se realizó en el Laboratorio de Neuropsicología del Departament de Psiquiatria i Psicobiologia de la Facultat de Medicina, en la Universitat de Barcelona.

Las **técnicas de neuroimagen** empleadas en cada uno de los estudios fueron las siguientes:

Para el **análisis morfológico** de la sustancia gris a partir de las imágenes 3D MPRAGE de alta resolución, en el estudio III, se utilizó la aproximación voxel-a-voxel (VBM, *voxel-based morphometry*) procesado mediante el programa Statistical Parametric Mapping (SPM5) del Wellcome Department of Cognitive Neurology, Institute of Neurology, London, GB) ejecutado en Matlab 7.1 (MathWorks, Natick, MA). Éste método automático de procesamiento de imágenes permitió obtener mapas estadísticos teniendo en cuenta todo el cerebro en un mismo análisis, para destacar diferencias entre grupos o correlaciones con variables externas como pueden ser los índices de RC. Igualmente, los datos estructurales, en los otros estudios (I, II, IV), se analizaron con la herramienta FSL-VBM (Ashburner 2000, Good 2001) del programa FSL (Smith, 2004). En los estudios I y II estudiamos las diferencias de SG con VBM con volúmenes cerebrales completos y para el estudio IV estudiamos las diferencias en materia gris restringiendo el análisis a regiones de interés definidas con RMf. En todos los casos, las imágenes fueron preprocesadas siguiendo el protocolo estándar, que incluye reorientación, normalización, segmentación y suavizado.

Para el **análisis de la integridad de la sustancia blanca** a partir de imágenes de difusión, primero se les aplicó un preprocesado (Eddy current correction y bet brain extraction), y se utilizó la aproximación por tensor de difusión módulo DTIFIT para crear mapas de anisotropía fraccional, difusividad media, radial y axial.

Posteriormente, los mapas individuales de cada una de estas medidas fueron analizadas a nivel grupal mediante el módulo TBSS (Tract-based spatial statistics) utilizamos el modelo de GLM del programa FSL (FMRIB's Software Library, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fsl/list.html>).

Para el análisis de la SB también se utilizó las imágenes de tensor de difusión para generar tractografía, permite reconstruir y visualizar volumétricamente las fibras de la sustancia blanca del SNC. Este instrumento posibilita el análisis de la conectividad estructural de las diferentes áreas neuronales funcionalmente relacionadas.

***Para el procesamiento de la imágenes de RMf se utilizaron los siguientes programas:***

*Para el estudio III:* el programa Statistical Parametric Mapping (SPM5) del Wellcome Department of Cognitive Neurology, Institute of Neurology, London, GB) ejecutado en Matlab 7.1 (MathWorks, Natick, MA). Se llevaron a cabo las siguientes operaciones:

- Realineamiento: corrección del movimiento de la cabeza.
- Corregistro de las imágenes RMf con la imagen 3D de cada sujeto.
- Normalización: transformación a un espacio estándar (MNI, Montreal Neurological Institute).
- Suavizado (“Smoothing”): aproximación de los datos a una distribución normal.
- Definición del modelo estadístico: función de base del tipo “box-car” convoluada con la respuesta hemodinámica.
- Estimación estadística: estimación individual del modelo, previo filtrado de las frecuencias bajas para eliminar las variaciones lentas de orden fisiológico (latido cardíaco, respiración).

*Para el estudio IV:* Usamos una herramienta basada en el análisis de componentes independientes para el programa FSL que se conoce como “Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components” (MELODIC) con la cual se consigue una descomposición de los datos en variaciones del tiempo, del espacio y de los sujetos; proporcionando más datos que aquellos que se pueden extraer mediante el análisis clásico de RM funcional. Esta técnica multivariante del análisis de la coherencia permite identificar redes cerebrales que trabajan de forma sincrónica durante el procesamiento cognitivo, es decir, redes de conectividad funcional. Además, permite ver si estas redes están relacionadas con la ejecución de la tarea. Para cada componente independiente obtenido, MELODIC crea un mapa espacial que incluye tanto activaciones como desactivaciones, así como una serie temporal y su vector de sujetos (contribución de cada sujeto a dicho componente)

Las redes funcionales del cerebro extraídas del análisis de los datos de la fMRI ICA se usaron para orientar los análisis con ROI de SG y el análisis volumétrico de DTI con el fin de definir las partes anatómicas de la red. Todas las herramientas de neuroimagen utilizadas en los distintos pasos son parte del software FSL (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/FSL/H>, (Smith y col., 2004).

## 4.- RESULTADOS

#### 4.- RESULTADOS

##### **ESTUDIO I: Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance**

##### **OBJETIVOS**

- Investigar las áreas que experimentan cambios en la AF en el envejecimiento 'fisiológico' y 'patológico'.
- Estudiar los cambios de los distintos índices en las áreas que experimentan cambios tanto el envejecimiento 'fisiológico' como el envejecimiento 'patológico'.
- Estudiar el significado clínico de estos cambios.

##### **RESULTADOS**

En este primer estudio se evidencia un decremento de anisotropía fraccional (AF) en áreas posteriores en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve. Interesantemente, la mayoría de regiones que muestran reducción de AF corresponden con áreas donde se incrementa la difusividad radial (DR) y la difusividad media (DM), mientras los cambios de difusividad axial (DA) son menos prominentes y más específicos para esta patología (EA).

No se encuentran diferencias regionales en comparación con los ancianos sanos o pacientes con EA al considerar el índice de AF como una 'medida resumen' de integridad de sustancia blanca. No obstante, fue posible identificar reducción de valores medios de AF en el DCL-a en las mismas regiones donde los pacientes con EA presentan disminución de AF. Estos hallazgos se confirman, también, con el análisis global de todo el cerebro estudiando la difusividad radial, donde se observan incrementos significativos de DR en pacientes con DCL-a en clara correspondencia anatómica con regiones donde también hubo incremento de DR en EA.

Cabe destacar, sin embargo, que las únicas diferencias de difusión que prevalecen ajustando por atrofia de SG son los cambios de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en partes posteriores del fascículo inferior frontooccipital y longitudinal en DCL-a.

Además, en este estudio, restringiendo los análisis a los grupos de pacientes, únicamente los valores de AF mostraron relación significativa con la 'ejecución de la memoria', evidenciando que el daño microestructural de SB reflejado con el índice de AF presenta buena correspondencia con los síntomas cognitivos predominantes de estos pacientes. Además, se observan correlaciones negativas no significativas estadísticamente, pero en la dirección esperada, para los valores de DM.





## Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance

Beatriz Bosch<sup>a</sup>, Eider M. Arenaza-Urquijo<sup>b</sup>, Lorena Rami<sup>a</sup>, Roser Sala-Llonch<sup>a,b</sup>,  
Carme Junqué<sup>b,c</sup>, Cristina Solé-Padullés<sup>a</sup>, Cleofé Peña-Gómez<sup>b</sup>, Núria Bargalló<sup>c,d</sup>,  
José Luis Molinuevo<sup>a</sup>, David Bartrés-Faz<sup>b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Alzheimer's disease and other Cognitive Disorders Unit, Neurology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain

<sup>b</sup> Department de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Universitat de Barcelona, Catalonia, Spain

<sup>c</sup> Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Catalonia, Spain

<sup>d</sup> Radiology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain

### Abstract

White matter (WM) damage has been reported in Alzheimer's Disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI) in diffusion tensor imaging (DTI) studies. It is, however, unknown how the investigation of multiple tensor indexes in the same patients, can differentiate them from normal aging or relate to patients cognition. Forty-six individuals (15 healthy, 16 a-MCI and 15 AD) were included. Voxel-based tract based spatial-statistics (TBSS) was used to obtain whole-brain maps of main WM bundles for fractional anisotropy (FA), radial diffusivity (DR), axial diffusivity (DA) and mean diffusivity (MD). FA reductions were evidenced among AD patients with posterior predominance. A-MCI patients displayed reduced mean FA in these critical regions, compared to healthy elders. MD increases were widespread in both groups of patients. Interestingly, a-MCI patients exhibited DR increases in overlapping areas of FA shrinkages in AD, whereas DA increases were only observed in AD. Gray matter atrophy explained most DTI differences, except those regarding MD in both groups as well as DR increases in posterior associative pathways among a-MCI cases. FA values were the only DTI measure significantly related to memory performance among patients. Present findings suggest that most DTI-derived changes in AD and a-MCI are largely secondary to gray matter atrophy. Notably however, specific DR signal increases in posterior parts of the inferior fronto-occipital and longitudinal fasciculi may reflect early WM compromise in preclinical dementia, which is independent of atrophy. Finally, global measures of integrity, particularly orientation coherence (FA) of diffusion, appear to be more closely related to the cognitive profile of our patients than indexes reflecting water movement parallel (DA) and perpendicular (DR) to the primary diffusion direction.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Aging; Alzheimer's disease; Diffusion tensor imaging; Mild cognitive impairment; Neuropsychology; White matter integrity

White matter (WM) damage in Alzheimer's disease (AD) has been identified from postmortem (Brun and Englund, 1986; Englund, 1998; Gold et al., 2007; Gouw et al., 2008) and MRI findings including WM signal abnormalities (Gouw et al., 2008; Heo et al., 2009; Yoshita et al., 2006) and volumetric reductions (Balthazar et al., 2009; Li et al., 2008; Salat et al., 2010; Stout et al., 1996). Using neuro-

imaging techniques, more precise knowledge of the WM changes contributing to AD is being achieved, especially after the introduction of diffusion tensor imaging (DTI), which allows investigation of the microstructure and integrity of white matter fiber tracts (Le Bihan et al., 2001; Sundgren et al., 2004). In this regard, many DTI studies of AD and mild cognitive impairment (MCI, Bozzali et al., 2002; Damoiseaux et al., 2009; Duan et al., 2006; Fellgiebel et al., 2005, 2008; Kantarci et al., 2001; Rose et al., 2006; Xie et al., 2006; Yoshiura et al., 2006; Zhang et al., 2007) have focused in fractional anisotropy (FA) or mean diffusivity indexes (MD). MD can be used as a measure of

\* Corresponding author at: Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain. Tel.: +34 93 4037264; fax: +34 93 4035294.

E-mail address: dbartres@ub.edu (David Bartrés-Faz).

alterations of brain tissues, whereas FA reflects white matter integrity, being one of the most used indexes derived from MR-DTI acquisitions (Basser and Pierpaoli, 1996).

Several factors are implied in FA variation, including myelination, axon density, axonal membrane integrity, axon diameter (Beaulieu, 2002) and intravoxel coherence of fiber orientation (Smith et al., 2007). Thus, for a deeper understanding of WM involvement in neuropsychiatric disorders, the use of multiple diffusion tensor measures has been proposed (Alexander et al., 2007). In this regard, recent work has evidenced higher sensibility of radial diffusivity (DR) than axial diffusivity (DA) to reveal the normal process of WM aging (Davis et al., 2009; Zhang et al., 2008), because DR has been associated to myelin breakdown (Harsan et al., 2006; Song et al., 2005). In contrast, AD pathology is characterized by WM changes that may be related to the A $\beta$  load (Chalmers et al., 2005) axonal damage and Wallerian degeneration (Alexander et al., 2007; Basser and Pierpaoli, 1996; Beaulieu, 2002; Chalmers et al., 2005; Damoiseaux et al., 2009; Davis et al., 2009; Duan et al., 2006; Fellgiebel et al., 2008; Harsan et al., 2006; Huang and Auchus, 2007; Smith et al., 2007; Song et al., 2005; Xie et al., 2006; Zhang et al., 2007, 2008). DA alterations have been related to these processes in AD with inconsistent findings as regional increases (Acosta-Cabronero et al., 2009; Salat et al., 2010) or decreases (Huang et al., 2007) of this index have been reported. Moreover, very few studies have investigated DR and DA indexes in the same group of AD patients (Acosta-Cabronero et al., 2009; Salat et al., 2010) and aged populations (Bennet et al., 2009; Zhang et al., 2008). FA and MD indexes can be calculated from the three eigenvalues and thus, they are not independent measures from DR and DA. In fact, the different combinations of changes in axial and radial diffusivities, can result in different, from decreased to increased, FA or MD values. To our knowledge however no investigation has yet studied in MCI if there are specific alterations of the DR and DA indexes using a whole-brain analysis, and how they relate to FA and MD findings. The study of WM integrity as a marker of cognitive and clinical status in these conditions is relevant, because it may be related to clinical progression in MCI (Mielke et al., 2009) and AD (Nakata et al., 2009). Thus, it would be of particular interest to investigate if any of the proposed DTI derived measures is particularly sensitive to detect early WM damage in mild AD and in MCI, as compared with normal elders.

The objectives of the present study are threefold: First, to use tract-based spatial statistics procedure (TBSS) comparing whole-brain maps of FA in healthy elders, a-MCI and AD patients. Specifically, as an attempt to provide a more refined understanding of the nature of FA changes, regions showing FA variations among group comparisons will be subsequently investigated by employing multiple diffusion tensor measures (DA, DR, MD). Second, to provide a

whole-brain map analyses of DA, DR, MD and FA changes as well as their areas of overlapping in AD and MCI subjects. Finally, to determine the clinical significance of the DTI findings through correlations with neuropsychological evaluations.

## 1. Methods

### 1.1. Subjects

Forty-six individuals older than 65 years were prospectively recruited from the *Alzheimer's disease and other Cognitive Disorders Unit*, at the Neurology Service of the Hospital Clinic, in Barcelona. This sample included 15 healthy elders, 16 patients with MCI and 15 AD cases. For the present study, patients with MCI were prospectively selected only if they presented the amnesic form of the disorder (a-MCI), as defined by the fact that their remaining cognitive functions and activities of daily living were within the normal range. All participants underwent clinical and neuropsychological evaluations using the diagnostic procedures employed previously by our group (Rami et al., 2007; Solé-Padullés et al., 2009). Healthy individuals did not meet criteria for dementia and presented no cognitive complaints or performances below  $-1.5$  SD on any neuropsychological test. Patients with a-MCI reported complaints of memory function and scores below  $-1.5$  SD on an episodic memory test. Probable AD diagnosis was established by an interdisciplinary clinical committee formed by two neurologists and one neuropsychologist according the NINCDS-ADRDA criteria. All AD patients included were in the mild stage of the disease (Global Deterioration Scale = 4). This study was approved by the local ethics committee and appropriate procedures were used concerning human subjects.

Table 1 lists the neuropsychological tests employed to compare our groups of subjects. For purposes of correlations with the distinct DTI indexes, composite neuropsychological variables tapping the memory, executive, language and visuoperceptive-visuospatial domains were generated. These variables reflect the mean values for each individual of the standardized scores for the neuropsychological tests included in each case, which were the following: the composite memory score included the mean standardized individual scores of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease (CERAD) recall of construction Praxis (Morris et al., 1989), as a visual test, and the Grober and Buschke Free and Cuet Selective Reminding test (Grober and Buschke, 1987) (total free recall and delayed free recall subtests), as a verbal memory test. The second composite score, related with frontal functions, included tests measuring attention, working memory, abstract reasoning and phonemic verbal fluency and it was generated by averaging standardized scores of the digit backwards the symbol search tests, the Similarities test of the Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS-III) WAIS and the Con-

Table 1  
Demographic and cognitive characteristics of the sample groups

	HE	a-MCI	AD	F/ $\chi^2$	p value	Post-hoc
Age	75.27 (5.66)	74.63 (6.85)	72.20 (5.75)	1.05	0.36	—
Gender (women)	10	10	8	0.59	0.75	—
MMSE	27.67 (1.49)	25.50 (2.03)	21.40 (3.06)	29.09	< 0.001	HE vs. MCI: < 0.04; HE vs. AD: < 0.001; MCI vs. AD: < 0.001
Composite memory	1.17 (0.39)	-0.32 (0.34)	-0.84 (0.24)	149.92	< 0.0001	HE vs. MCI: < 0.001; HE vs. AD: < 0.001; MCI vs. AD: < 0.001
Recall of Constructional Praxis CERAD	8.13 (2.10)	4.88 (2.39)	1.27 (1.62)	41.67	< 0.0001	HE vs. MCI: < 0.001; HE vs. AD: < 0.001; MCI vs. AD: < 0.001
Free recall (FCSRT)	25.67 (5.76)	9.81 (5.04)	5.00 (2.39)	81.06	< 0.0001	HE vs. MCI: < 0.001; HE vs. AD: < 0.001; MCI vs. AD: < 0.02
Long term retrieval (FCSRT)	8.47 (1.99)	0.56 (1.09)	0.40 (1.55)	129.15	< 0.0001	HE vs. MCI: < 0.001; HE vs. AD: < 0.001; MCI vs. AD: < 0.96
Composite "frontal"	0.41 (0.66)	-0.02 (0.53)	-0.34 (0.74)	4.63	0.02	HE vs. MCI: < 0.19; HE vs. AD: < 0.02; MCI vs. AD: < 0.43
Digit span -I (WAIS-III)	5.13 (1.88)	4.31 (1.66)	3.80 (1.42)	2.44	0.09	—
Symbol search (WAIS-III)	24.13 (10.09)	17.06 (5.43)	14.92 (7.18)	5.52	0.01	HE vs. MCI: 0.05; HE vs. AD: < 0.01; MCI vs. AD: 0.76
COWAT	24.80 (9.52)	24.62 (9.19)	19.33 (8.98)	1.71	0.19	—
Similarities (WAIS-III)	15.27 (4.57)	13.56 (3.36)	11.43 (5.08)	2.81	0.07	—
Composite language	0.33 (0.42)	0.23 (0.34)	-0.57 (1.26)	5.97	0.005	HE vs. MCI: < 0.92; HE vs. AD: < 0.01; MCI vs. AD: < 0.03
BNT	49.93 (5.39)	48.81 (4.13)	42.67 (9.51)	5.14	0.10	HE v. MCI: < 0.89; HE vs. AD: < 0.02; MCI vs. AD: < 0.05
BDAE comprehension	14.93 (0.25)	14.88 (0.34)	14.27 (1.28)	3.46	0.04	HE vs. MCI: < 0.89; HE vs. AD: < 0.02; MCI vs. AD: < 0.05
Composite Visuo-perceptive/visuospatial	0.31 (0.58)	0.06 (0.58)	-0.41 (1.17)	2.99	0.06	—
Incomplete Letters VOSP	19.60 (1.92)	19.50 (0.89)	17.53 (3.04)	4.57	0.02	HE vs. MCI: < 0.99; HE vs. AD: < 0.04; MCI vs. AD: < 0.04
Number location VOSP	9.60 (0.63)	8.94 (1.61)	8.86 (1.91)	1.12	0.33	—
Praxis						
Ideomotor praxis	5 (0)	5.38 (1.50)	4.40 (0.91)	3.53	0.03	HE vs. MCI: < 0.60; HE vs. AD: < 0.30; MCI vs. AD: < 0.04
Constructional praxis CERAD	9.47 (1.64)	9.69 (1.62)	9.13 (2.03)	0.38	0.68	—

HE: healthy elders; MCI: mild cognitive impairment; AD: Alzheimer's disease; MMSE: Mini-Mental State Examination. Composite memory and frontal reflect the mean standardized values for each group on tests tapping on these domains. CERAD: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease: Clinical and Neuropsychology Assessment. FCSRT: Free and cued selective reminding test. WAIS-III: Wechsler Adult Intelligence Scale III version. COWAT: Controlled Oral Word Association Test. BNT: Boston Naming Test. BDAE: Boston Diagnostic Aphasia Battery. VOSP: Visual Object and Space Perception Battery.

trolled Oral Word Association Test (COWAT, 1 min, letters F, A, S) tests (Lezak et al., 2004). The language composite score included the scores of the Boston Naming test and those of the Auditory Comprehension subtest of the Boston Diagnostic Aphasia Examination (BDAE, Goodglass and Kaplan, 1972). Finally, a visuo-perceptive-visuospatial variable was generated by computing the mean standardized values of the Incomplete Letters and the Number location tests of the Visual Object and Space Perception Battery (VOSP, Warrington and James, 1991) battery (Table 1).

## 1.2. MRI acquisition and DTI processing

All subjects were examined on a 3 T MRI scanner (Magnetom Trio Tim, Siemens Medical Systems, Germany). Diffusion weighted images were acquired using an echo-planar imaging (EPI) sequence (30 directions, TR = 5,600 ms, TE = 89 ms, 49 slices; slice thickness = 2 mm, gap = 0.6 mm, FOV = 100 mm, matrix size = 122 × 122). This sequence also provides a T2 weighted volume (B0) which was used to rate cerebrovascular disease based on the eval-

uation of white matter hyperintensities. Briefly, a board-certified neuroradiologist (N.B.) rated all images using the Fazekas scale (Fazekas et al., 1987). The mean and SD Fazekas' score scale for all the participants was 1.13, SD: 0.63, all of them with Grades 1–2. Because of this, some WM abnormalities were observed in our sample, probably age-related. Comparing the clinical groups no differences were observed between them (Controls: mean: 1.13, SD: 0.74; a-MCI: 1.06, SD: 0.57, AD: 1.21, SD: 0.57;  $F = 0.21$ ,  $p = 0.81$ ). A high-resolution 3D structural dataset (T1-weighted MR-RAGE, TR = 2,300 ms, TE = 2.98 ms; FOV =  $100 \times 100$  cm; matrix size =  $256 \times 256$ ; Flip angle = 9; Slice thickness = 1) was also acquired to coregister with the DTI data. DTI processing and voxelwise statistical analysis were performed with FSL v4.0 (Smith et al., 2004) at the Neuroimaging Laboratory of the Department of Psychiatry and Clinical Psychobiology, Faculty of Medicine, University of Barcelona. Corrected and registered Diffusion-Weighted images were used to obtain voxel-wise Mean Diffusion (MD) maps and to create a DTI model, including maps of FA, Radial Diffusivity (DR) and Axial Diffusivity (DA), by using the FMRIB Diffusion Toolbox, after correcting the effects of motion and eddy currents, affining the registration to the reference volume (b0) and applying FSLs Brain Extraction Tool (BET) (Smith et al., 2002). Tract-Based Spatial Statistics (TBSS 1.1) (Smith et al., 2006) was used for voxelwise statistical analysis. Non-linear transform were applied using the FSL registration tool, FNIRT, to obtain FA images aligned to standard space and the resulting images were merged into single 4 D image. FMRIB58-FA standard-space image as target following the recommendations of FSL software guidelines. The mean of all FA images were fed into a skeletonization program obtaining the mean FA skeleton. After applying the nonlinear transforms we verified that the registration worked properly by checking that each subject's major tracts were well aligned to the relevant parts of the skeleton. Subsequently, the mean FA skeleton was thinned (threshold FA value of 0.25) to identify all the fiber pathways consistent across subjects. Finally, FA data were projected onto the thresholded mean FA skeleton assigning the maximum FA value of the FA image to the skeleton voxel, and obtaining an image which contains the projected skeletonized FA data. TBSS analysis were performed for MD, DR and DA images applying the data of the nonlinear warps, skeletonization stages and the estimation of the projection vectors from FA images as recommended.

Brain tissue volume, normalized for subject head size, was estimated with SIENAX (Smith et al., 2002), part of FSL (Smith et al., 2004). From these results, we computed the ratio between gray matter (GM) tissue and total brain tissue to obtain a measure of total GM corrected volume per individual.

### 1.3. Statistical analyses

For clinical, demographic and cognitive variables comparisons the Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0) was employed using ANOVAs with Scheffé's posthoc or  $\chi^2$  tests for categorical variables (significant values set at  $p \leq 0.05$ ). Pearson's correlations were performed to investigate relationships between composite cognitive indexes, and areas across the multiple tensor parameters showing group differences. To investigate if GM atrophy influenced DTI results all analyses were repeated by adjusting for GM volumes.

DTI-based voxelwise statistics were carried out using a simple permutation program (randomize) for nonparametric statistics and a standard GLM design because the distribution of FA values has been suggested to deviate from normality (Jones et al., 2005; Marengo et al., 2006). With this approach, voxelwise differences among groups applying two-sample  $t$  tests were assessed. We used the thresholded mean FA skeleton (mean value of 0.25) setting the number of permutation to 5,000 as recommended and the significance threshold at  $p < 0.05$  corrected for multiple comparisons familywise error correction (FWE).

## 2. Results

### 2.1. Demographic and cognitive characteristics

Healthy elders, a-MCI and AD patients did not differ in terms of age and gender distribution. MMSE scores, all episodic memory tests and the composite memory and language variables were altered in AD but the latter was preserved among a-MCI patients. AD cases also displayed impairments in the "frontal lobe" composite domains and in tests of Praxis and visuo-perceptive functions (Table 1).

### 2.2. Fractional anisotropy differences

Relative to healthy elders, AD patients showed significant FA decreases within the four lobules, despite the more affected regions were in posterior areas of the left hemisphere. In anterior areas, the left uncinate fasciculus was clearly compromised as they were left inferior fronto-occipital and cingulate bundles. In temporal, parietal and occipital regions, parts of the inferior fronto-occipital, inferior longitudinal, superior longitudinal and cingulate tracts showed significant FA reductions (Fig. 1A). No differences could be evidenced when comparing a-MCI to healthy elders or to AD patients. Even though there was a progressive decrease of mean whole-brain FA values from healthy elders (mean FA = 0.48 SD: 0.02) to a-MCI (mean FA = 0.46 SD: 0.03), to AD (mean FA = 0.45 SD: 0.03), differences did not reach statistical significance ( $F = 2.83$ ;  $p < 0.07$ ). Nevertheless, a-MCI could be differentiated from both healthy elders and AD patients when contrasting mean FA values comprised within the anatomical regions where AD patients showed FA reductions (Fig. 1B).

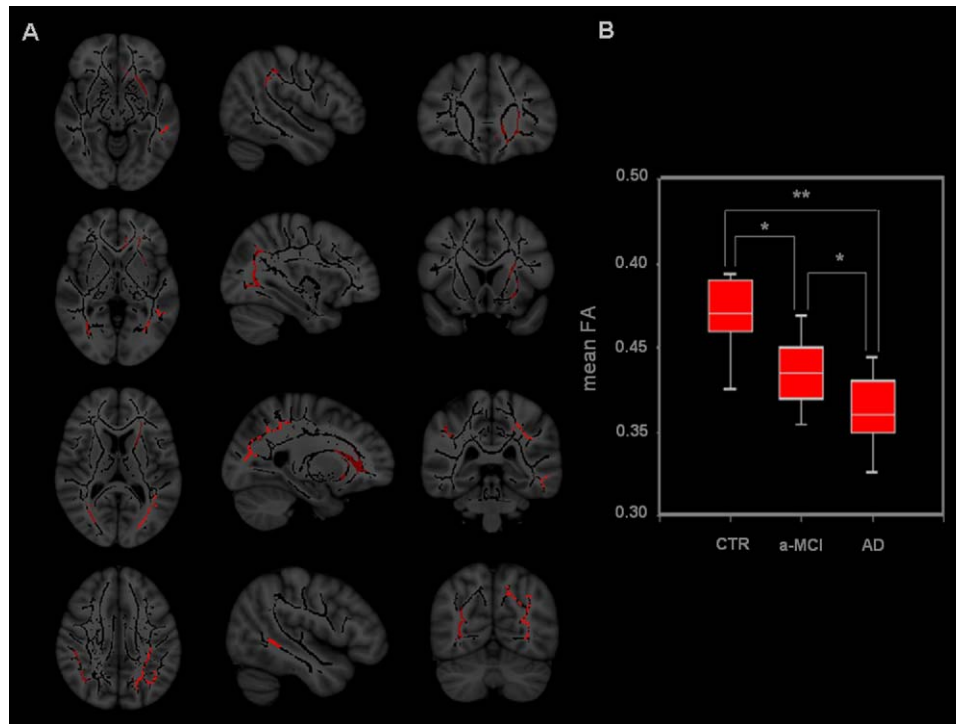


Fig. 1. (A) Areas showing significant FA decreases among AD compared to healthy elders (see main text for an anatomical description). (B) Mean FA reductions among a-MCI as compared to healthy elders in WM areas where AD exhibited FA decreases. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

### 2.3. Radial diffusivity differences

Most regions showing FA decreases among AD patients showed corresponding increases in DR. Full brain comparisons of DR maps revealed additional increments of DR in the callosal genu, the cingulum, the right uncinate fasciculus and the occipitofrontal fasciculus. Overall, the corpus callosum was compromised entirely, with DR increases in anterior, body and posterior (splenium) parts.

For a-MCI, clear significant DR raises in several areas emerged when compared to healthy elders. Parts of the inferior longitudinal, the occipitofrontal fasciculi and the posterior cingulum were affected bilaterally. The longitudinal superior and uncinate fasciculus were altered in the right hemisphere. Importantly, when FA reduction maps in AD where superimposed to DR increases in MCI, clear anatomical overlapping could be observed in posterior areas, albeit in AD the regions also spread more anteriorly with left hemisphere predominance (Fig. 2). No differences between AD and a-MCI emerged for the voxelwise DR comparison.

### 2.4. Axial diffusivity differences

When we restricted the TBSS analysis of DA changes to areas showing FA shrinkages in AD, only one cluster in the left uncinate fasciculus exhibited significant DA increases compared to healthy elders (Fig. 3). For whole-brain analysis, DA increases were observed only in AD patients compared to healthy elders, and these were bilateral, including the inferior occipitofrontal fasciculi, the superior and inferior longitudinal

fasciculus, the cingulum bundle and the uncinate fasciculus. The corpus callosum was affected entirely, in the anterior and posterior part as well as in the body (Fig. 4).

### 2.5. Mean diffusivity differences

Global compromise of MD was evidenced for AD compared with healthy elders. Virtually, all the main fiber tracts represented in the TBSS skeleton showed MD increases with the exception of two small clusters localized in anterior and posterior parts of the inferior occipitofrontal fasciculus.

For a-MCI, MD increases were also widespread, including anterior and posterior areas with right hemisphere predominance, remaining the temporal lobe spared. The areas of fiber tracts showing MD increases were the occipitofrontal fasciculi bilaterally, the superior longitudinal fasciculus, the callosal body, the cingulum bundle, the fornix and the uncinate fasciculus bilaterally.

### 2.6. Regions of overlapping diffusion findings and correction for gray matter atrophy

We finally investigated the areas showing overlapping changes in the distinct diffusion indexes. Figure 5 depicts the superimposed maps taking as a reference FA and MD findings and combining the other DTI indexes. While most figures correspond to AD results (i.e., all indexes were affected, Fig. 5A and 5B) the overlapping areas of MD and DR among a-MCI are also depicted (Fig. 5C). Regarding AD, it can be observed that most FA reductions were ac-

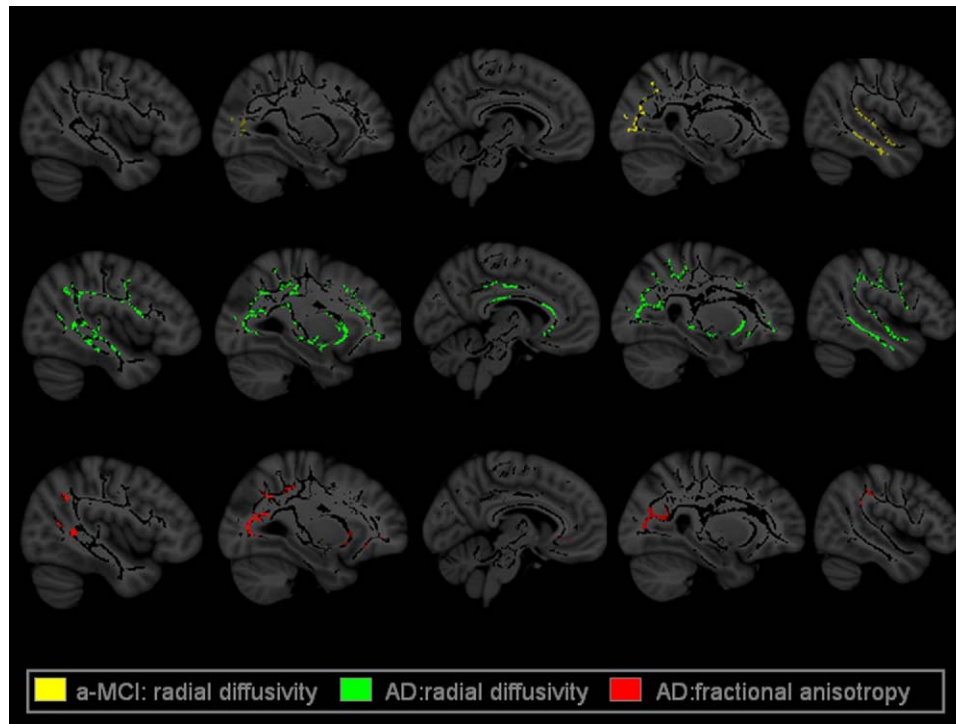
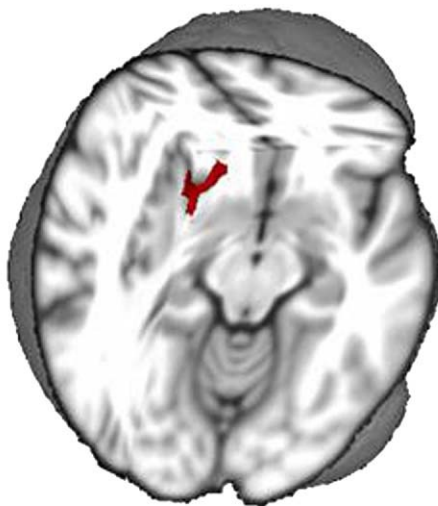


Fig. 2. White matter areas showing significant DR increases in a-MCI and AD patients compared to healthy elders. Note that regions displaying significant increases among a-MCI show anatomical overlap with those of reduced FA among demented patients.

accompanied by concomitant DR increases (regions depicted in dark blue in Fig. 5A). Thus, this combined map closely overlaps with the areas reflecting isolated FA decreases. In contrast, when we considered the areas that solely exhibited overlaps between FA decrements and DA increments (re-



**FA decreases and AxD increases**

Fig. 3. Three-dimensional view of the left uncinus sulcus is represented to note that this particular tract was unique in showing DA increases within the region exhibiting FA decreases, in AD patients.

moving regions showing DR changes), only the left uncinus fasciculus emerged (small green areas in Fig. 5A). Finally, when considering areas where reductions in FA coincided with increases in DR, in DA or in both indexes, the picture resembled the one with overlapping of FA and DR but it was clearly reduced in extent (in red in Fig. 5A), mainly affecting left temporal, periventricular regions and the anterior callosum. A similar pattern was observed when studying the combination of MD with DR and DA indexes (Fig. 5B), as the largest overlaps (i.e., approaching the original MD findings) were observed for the conjoint MD and DR increases (regions depicted in dark blue). Again, when areas showing conjoint increases only in MD and DA values the map was clearly reduced to the different segments of the corpus callosum (genum, body and splenium) as well as bilaterally in temporal areas including the inferior fronto-occipital fasciculi and the temporal segment of the superior longitudinal fasciculus (areas in green). These latter tracts in the anterior and posterior temporal lobes did also show overlapping increases of the three indexes (MD, DR and DA), as well as all the segments of the corpus callosum as well as the uncinus bundle bilaterally. Finally, for aMCI cases (Fig. 5C) we looked at the overlapping maps of MD and DR, the only two diffusion indexes showing voxelwise differences when compared to healthy elders. Anatomically, the overlapping map revealed a clear similarity with the regions showing DR increases when this index was considered individually, including posterior brain

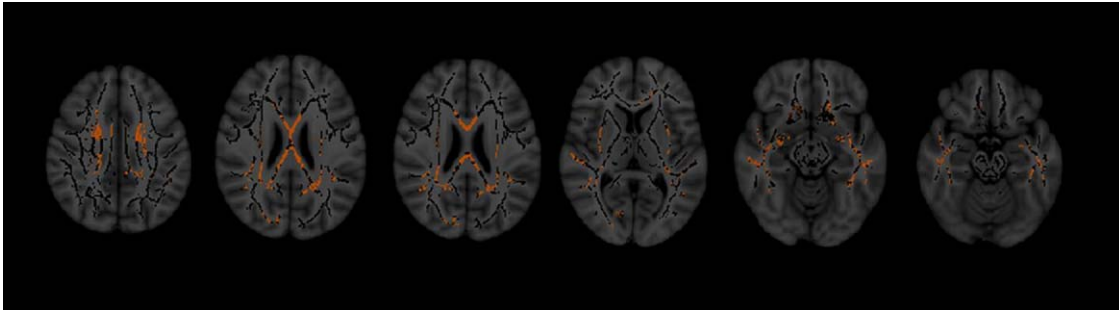


Fig. 4. Results of the whole-brain analysis displaying areas of DA increases in AD (see main text for an anatomical description).

areas bilaterally and in the right temporal lobe (see Fig. 2). However, the spatial extent of the isolated DR map was greater than the areas where both MD and DR showed increases (Fig. 5C), implying that regions of isolated DR increases were observed in this condition.

Finally we repeated all DTI index comparison among groups after adjusting for GM atrophy. The main findings concerning the MD for both groups and some significant clusters implying increased DR in posterior and temporal areas of the inferior longitudinal and the inferior fronto-occipital fasciculi were maintained in a-MCI. In contrast, this adjustment

had a clear impact on FA, DR and DA results, which were completely affected in AD group. In particular, no significant area of decreased FA or increased DR or DA could be further observed among AD after controlling for GM volume.

### 2.7. Correlations between DTI findings and neuropsychological performance

When considering the three groups simultaneously, mean values for each DTI index in the regions showing group differences (i.e., controls vs. AD and controls vs. a-MCI)

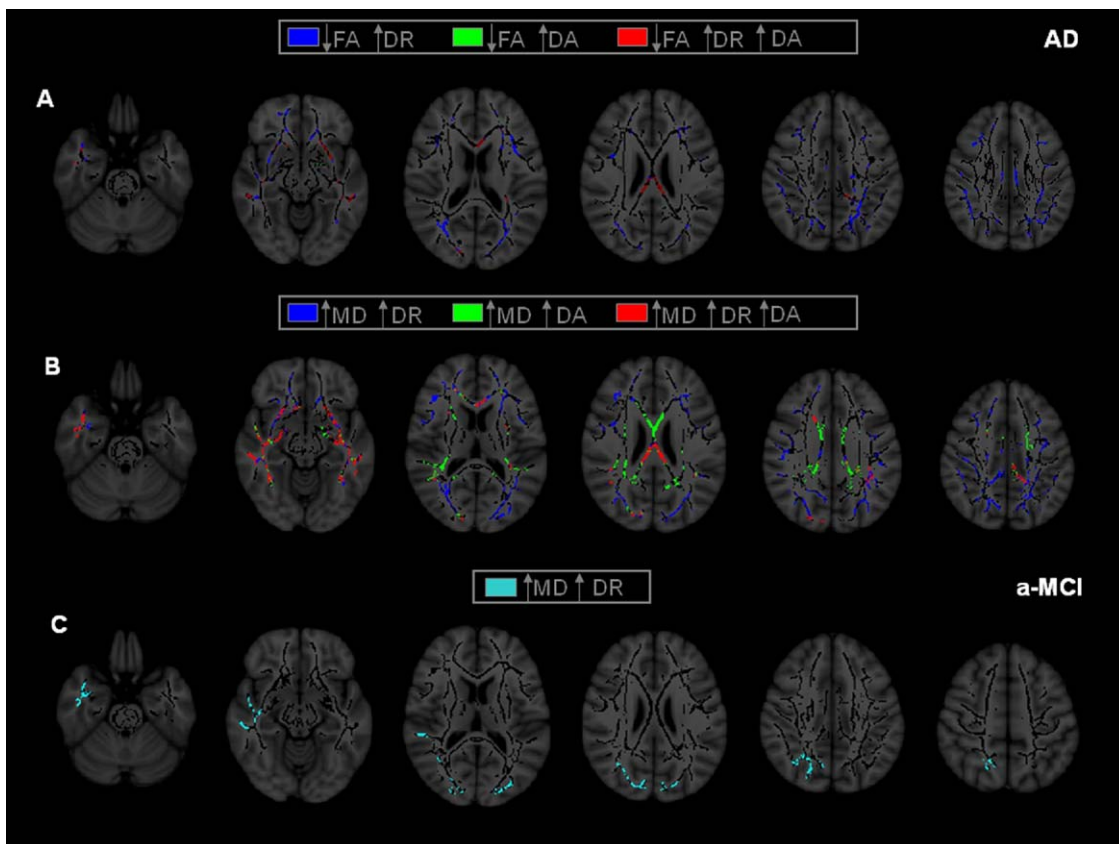


Fig. 5. Axial representations of overlapping WM areas for FA with DA and DR and for MD with DA and DR for AD (A,B) and a-MCI cases (C, see main text for anatomical description).

were found to be significantly associated with ratings of the composite memory variable, but not with those of other composite neuropsychological measures. In this regard, higher FA ( $r = 0.66, p < 0.001$ ) and lower MD ( $r = -0.56, p < 0.001$ ) DR ( $r = 0.54, p < 0.001$ ) and DA ( $r = -0.74, p < 0.001$ ) values were related to better performance in memory tests. However, when only patients were considered, the only positive significant correlation was observed between the FA index and the composite memory domain. MD was also negatively related to memory performance but the association did not reach statistical significance (Fig. 6). After adjusting for GM volumes, the correlation between memory performance and the FA index was maintained ( $r = 0.54, p < 0.002$ ), the rest remaining nonsignificant (not shown).

### 3. Discussion

Several main findings emerged from this whole-brain comparison of FA, DR, DA and MD DTI-derived indexes in healthy elders, a-MCI and AD patients. First, regional specific FA decreases among mild AD could be identified. Interestingly, areas showing FA decreases mostly corresponded with radial and mean diffusivity raises, while DA diffusivity changes were less prominent and specific for AD. Second, mean FA reductions among a-MCI were found when selecting WM areas where AD patients exhibited altered FA values, suggesting incipient compromise of WM tracts in critical posterior regions. This was also confirmed by whole brain analyses using the DR metric, where significant DR increments among a-MCI were found in clear

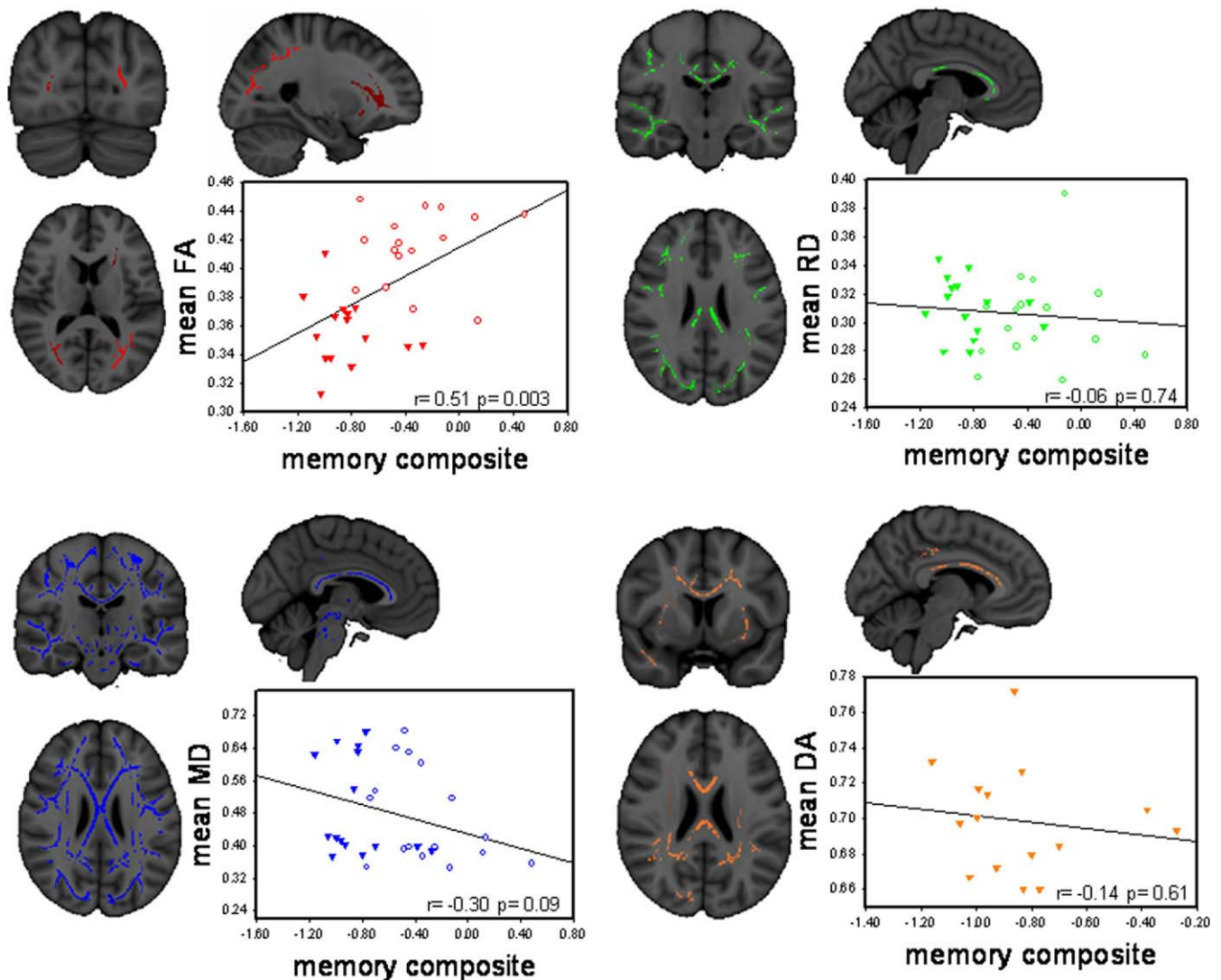


Fig. 6. Correlations between regional alterations of distinct DTI indexes in patients and the composite memory scores. For representation purposes the regions in colors for each DTI index reflect the total areas affected in both a-MCI and AD compared to controls. An exception are FA correlations where regions represent decreases among AD, despite a-MCI are also included, as mean FA values in those particular areas were significantly decreased in this group. For DA only correlations for AD are included because no changes for this index were observed among a-MCI. a-MCI: empty circles; AD: triangles.



anatomical correspondence with regions of DR increases in AD. In addition, MD changes were widespread in both groups. In general, MD changes for both groups and posterior areas exhibiting DR increases among a-MCI were the only diffusion differences that prevailed after adjusting for GM atrophy. Finally, when restricting the analysis to patients, only the FA values were significantly related to memory performance, evidencing that microstructural WM damage as reflected by this commonly used index has a direct correspondence with the predominant cognitive symptoms of these patients.

### 3.1. Fractional anisotropy findings

The reduced FA values observed in AD patients adds further evidence to recent observations using equivalent methodology to process DTI data (Acosta-Cabronero et al., 2009; Damoiseaux et al., 2009; Salat et al., 2010; Stricker et al., 2009). Association fiber pathways such as the inferior fronto-occipital fasciculus were compromised bilaterally in accordance with recent observations (Fellgiebel et al., 2008), as well as the superior longitudinal fasciculus (Xie et al., 2006). The cingulate bundle was also affected in the left hemisphere, in partial agreement with other findings using distinct methodologies and reporting right hemisphere (Acosta-Cabronero et al., 2009) or bilateral involvement (Fellgiebel et al., 2008; Xie et al., 2005; Zhang et al., 2007). Notably, we found compromise of the uncinate fasciculus among AD but not in MCI patients, which agrees with a former TBSS-based report (Damoiseaux et al., 2009, but see uncorrected voxel-wise TBSS findings from Liu et al., 2009) and a tractography study (Kiuchi et al., 2009), as well as with previous ROI findings in AD (Taoka et al., 2006; Yasmin et al., 2008). This fascicle is a corticocortical bundle connecting the anterior frontal and inferior temporal lobes (Ebeling and von Cramon, 1992; Petrides and Pandya, 1988; Ungerleider et al., 1989), and its affectation probably reflects the critical implication of the temporal lobe in AD pathology (Hanyu et al., 1998). Our study provides novel evidence of the relevance of the involvement of this tract in AD patients by using multiple DTI parameters in the same sample of patients, as it was the only brain area showing FA reductions as well as concomitant DA increases within FA affected regions.

In accordance with a previous report using the same voxel-wise approach among a-MCI patients (Damoiseaux et al., 2009), we failed to observe regional differences compared to healthy elders or to AD patients when considering the FA index as a summary measure of white matter integrity. Nonetheless, we could identify a reduction of the mean FA when analyses were restricted to areas in which AD patients exhibited altered FA values. Reductions of FA in particular brain regions among a-MCI are in the line of previous reports (Bai et al., 2009; Fellgiebel et al., 2005; Medina et al., 2006; Rose et al., 2006; Wang et al., 2009; Zhang et al., 2007) albeit they were based in ROI ap-

proaches based on a priori knowledge of previous literature of WM involvement. Overall, present findings add further evidence indicating that incipient WM damage can be evidenced among a-MCI patients when focusing on brain regions compromised in the early stages of dementia. Finally, both in AD and a-MCI the visualization of the overlapping areas between FA and DR and DA revealed that most reductions of the FA index were mainly explained by changes in the perpendicular direction (DR increases). In contrast, when restricting the TBSS analysis of the principal eigenvector ( $\lambda_1$ , DA) to areas showing FA decreases, only the uncinate fasciculus emerged. Thus, as regards the study of the relationship among distinct diffusion indexes, the clearest overlapping between FA and DR indexes than for FA and DA measures is consistent with a recent TBSS study in aging showing that age-related FA decreases were associated with an age-related increase in DR and to a lesser extent with increases in both DR and DA indexes (Bennet et al., 2009).

### 3.2. Mean diffusivity and radial diffusivity findings

The recent available work considering voxel-wise analysis of the distinct DTI indexes in young (Qiu et al., 2008), elder populations (Davis et al., 2009; Zhang et al., 2008) and in AD patients (Acosta-Cabronero et al., 2009; Salat et al., 2010), found that changes in MD or DR were more clearly observed across distinct comparisons (i.e., childhood vs. adolescents, elders vs. young subjects and healthy elders vs. AD patients), compared with FA or changes of the principal eigenvector ( $\lambda_1$ , DA). Our findings agree with these observations demonstrating widespread increases in MD and DR in early AD in most areas showing FA shrinkages, but also in more extent anatomical regions when considering whole-brain analyses. In our study, MD increases among AD and a-MCI were not confounded by gray matter atrophy, possibly revealing myelin breakdown relatively independent of the underlying neurodegenerative process, in accordance with observations that MD increases reflect a net loss of barriers that restrict water molecular motion and tissue anisotropy of white matter. However, it is also to note that little anatomical specificity can be achieved using this index, as virtually the whole skeleton for both groups was affected. Other studies could evidence more anatomical precision for MD in the entorhinal cortices, occipital, parietal and frontal lobes (Chen et al., 2009; Rose et al., 2006), centrum semiovale, hippocampus and temporal lobe (Fellgiebel et al., 2004; Kantarci et al., 2001) for MCI group; and corpus callosum (Bozzali et al., 2002; Duan et al., 2006), parietal (Duan et al., 2006; Fellgiebel et al., 2004; Kantarci et al., 2001), temporal (Bozzali et al., 2002; Fellgiebel et al., 2004; Kantarci et al., 2001) and frontal lobes (Bozzali et al., 2002) in AD. Nonetheless, most studies were focused on ROIs and no former data are available providing MD measures in a-MCI using TBSS. As regards AD, only one

study measured MD changes employing this methodology (Acosta-Cabronero et al., 2009), and results were largely consistent with the ones reported here, observing that MD increases are more extensive than FA decreases in this condition. Overall, the most interesting result of this combined diffusion index study as regards MD and DR is the finding that some areas showing DR increases among a-MCI in critical posterior anatomical areas are relatively independent of GM atrophy. This may indicate some sort of damage related to incipient WM demyelination in these patients, as will be discussed below.

### 3.3. Axial diffusivity findings

This study provides evidence indicating that clear DA increases are unique in differentiating AD patients from healthy elders, but are not characteristic of the a-MCI condition. In a previous report also investigating FA, DR and DA indexes in AD with TBSS (Stricker et al., 2009), the authors failed to show changes in DA in patients when compared with controls. However, in that study, DA analyses were only restricted to regions showing significant FA reductions. Conversely, we also studied whole-brain differences among groups, identifying regions of DA increases outside FA affected areas, only for AD patients, which is consistent with another recent report observing DA increases using whole-brain TBSS analyses (Acosta-Cabronero et al., 2009). There is some controversy regarding the interpretation of DA variations in pathological conditions, because both increases and decreases have been described (Acosta-Cabronero et al., 2009; Duan et al., 2006; Huang and Auchus, 2007; Huang et al., 2007; Salat et al., 2010; Yoshiura et al., 2006). Besides methodological issues, it seems that findings revealing DA decreases are mainly focused on homogeneous parallel fiber tracts, which are not significantly confounded by crossing WM fibers (Smith et al., 2007). In contrast, when the imaging voxels contain crossing fibers, less coherently organized tracts or extracellular fluid increases, an increment in DR could result in an apparent increase in all eigenvalues within a voxel (Charlton et al., 2006) contributing to the reported DA increases. In our study, pathological increments of the DA index among AD are in accordance with recent findings from Salat et al. (2010) and Acosta-Cabronero et al. (2009) comparing AD patients and older adults. In Salat et al. (2010) and in the present report, DA raises were reduced after adjusting for gray matter atrophy, albeit they remained in temporal and parahippocampal cortices in the previous work, while they were completely eliminated in our investigation. These differences are most probably explained by the fact that Salat et al. (2010) specifically adjusted for hippocampal volume while we used whole gray matter volume correction.

### 3.4. Possible mechanisms underlying multiple DTI index abnormalities in AD and MCI

The interpretation of water diffusion data are complex, especially in regions showing changes in different DTI indexes in which it is not entirely clear if the same mechanism underlies these changes. However, based on the previous literature, two principal and possibly coexistent mechanisms have been considered to account for DTI findings in aging and dementia. First, WM changes may be directly related to the neurodegenerative process. This possibility would suggest axonal damage related to Wallerian degeneration as the putative primary mechanism of WM change in AD (Alexander et al., 2007; Basser and Pierpaoli, 1996; Beaulieu, 2002; Chalmers et al., 2005; Damoiseaux et al., 2009; Davis et al., 2009; Duan et al., 2006; Fellgiebel et al., 2008; Harsan et al., 2006; Huang and Auchus, 2007; Smith et al., 2007; Song et al., 2005; Xie et al., 2006; Zhang et al., 2007, 2008). Second, myelin damage is a contributing factor for the pathology of both normal aging and AD, including the preclinical stages of the disease (Bartzokis, 2004), and has been related to A $\beta$  oligomerization (Bartzokis et al., 2007). In this regard, it has been proposed that the myelin sheath is the primary lesion site in normal aging and demented patients (Wallin et al., 1989). A conceptualization of the predominant myelin process explaining WM compromise in AD is considered in the retrogenesis model, where late-myelinating association fiber pathways are mainly compromised in initial stages of the disease, compared with early-myelinating fibers (Stricker et al., 2009).

In the present study and as regards AD patients, our findings clearly support that WM changes are intimately related to brain atrophy, as most differences between healthy elders and AD were no further significant after adjusting for whole GM volumes. Of note however, is the fact that WM compromise impacted mainly association (i.e., uncinate), limbic (cingulum) and commissural pathways (splenium of the corpus callosum), in accordance with the topography predicted by the retrogenesis hypothesis. Hence, to a lesser extent, the existence of some WM damage reflecting mainly myelin breakdown rather than Wallerian degeneration secondary to distal GM atrophy cannot be excluded, and this is probably reflected by MD increases in our study. Overall however, it should be emphasized that considering all the remaining diffusion measures, our findings in AD are compatible with the view that a concomitant impairment of gray and white matter is directly related to the neurodegenerative process that is at work in these patients. Thus, our results are in concordance with recent conclusions relating multiple DTI index alterations with specific degeneration of neuronal networks in AD (Acosta-Cabronero et al., 2009). Further, despite the fact that we did not restrict our GM volume correction to particular areas, the present results fit conceptually with a recent report employing a WM parcellation procedure, showing a corre-

spondence between subcortical WM damage adjacent to areas frequently exhibiting cortical degeneration in AD (Salat et al., 2009).

As in AD, results regarding FA reductions in our a-MCI group (restricted to AD-related WM pathological regions) were also highly dependent on GM atrophy characteristics, suggesting that previous DTI findings revealing decreased values of this commonly used index in this condition reflect axonal damage, probably related to the underlying neurodegenerative process. The most novel results in this sample however emerged when considering increases perpendicular to the main eigenvector (DR). Importantly, and despite DR increases showed substantial anatomical correspondence between clusters showing significant FA reductions in AD, some of the DR alterations in the posterior parts of the inferior longitudinal and fronto-occipital fiber pathways were not influenced by GM atrophy. In the previous literature, radial diffusivity alterations have been reported in models of dysmyelination (Tyszka et al., 2006) and demyelination, and associated to myelin breakdown (Harsan et al., 2006; Song et al., 2005). As the fiber tracts presenting significant DR increases in the a-MCI group correspond to late myelinating pathways, the fact that some of these areas remained after adjusting for GM may be partially supporting the retrogenesis model, and thus reveal areas of incipient WM compromise in the condition. Notwithstanding, it is also important to note that some of these pathways connect medial temporal and frontal lobe structures (i.e., inferior fronto-occipital fasciculus; Martino et al., 2009), which are progressively affected in terms of neocortical atrophy in MCI as the level of clinical impairment increases to early AD (McDonald et al., 2009). Overall thus, these observations suggest the possible coexistence in MCI of nearby WM regions reflecting both damage mainly related to myelin compromise as well as evidences of axonal damage secondary to atrophy in temporal structures principally.

In summary, the present results combining distinct DTI indexes provide evidence that, except for MD measures in both groups and specific DR increases in a-MCI, most WM changes are directly related to the underlying GM atrophy. In the preclinical stage of dementia the information provided by the DR maps may be useful in differentiating WM compromise in critical posterior regions not related to GM atrophy, possibly providing earlier information than FA alterations in the course of the disease.

### 3.5. Correlations between DTI findings and cognitive performance

In our study, areas of WM compromise in a-MCI and AD patients revealed significant correlations with composite scores of memory performance, but only when considering the FA index. The “frontal”, language and visuospatial-visuoperceptive composite scores did not show any correlation, indicating that FA alterations are related to a cognitive area profoundly impaired in our patients but not to

those exhibiting milder dysfunctions (i.e., frontal lobe, language and visuospatial-visuoperceptive functions in AD) or normal performance (these cognitive domains in a-MCI patients). Previous studies mainly focusing on FA and/or MD values in normal aging (Charlton et al., 2006; Grieve et al., 2007; Schiavone et al., 2009; Sullivan et al., 2008; Zahr et al., 2009) MCI and AD populations (Bai et al., 2009; Fellgiebel et al., 2005, 2008; Huang and Auchs, 2007; Rose et al., 2006; Walhovd et al., 2009; Xie et al., 2005) reported associations in the same direction (positive for FA and negative for MD) with cognitive performance. The fact that we observed correlations in the expected direction for the MD values but that they did not reach statistical significance may be related to reduced statistical power associated with relatively small samples, as they became significant when adding healthy elders in the analyses. However, it should be noted that to detect a specific association between WM damage and cognitive functions directly linked to brain pathology, the increased samples should particularly involve patient groups and include within group correlations. For the other indexes, DR and DA, significant associations were revealed also observed when collapsing all groups, but correlations were much more clearly reduced compared to MD when only considering patients. This observation may indicate that while the study of DTI indexes reflecting water movement parallel and perpendicular to the primary diffusion direction is useful to differentiate patterns of WM compromise in AD and a-MCI, the association of WM status and clinical profile is best attained when considering global measures of integrity, as the average rate (MD) and orientation coherence (FA) of diffusion.

Several limitations of the study should be considered in the interpretation of the results. First, our sample included a reduced number of healthy elders and patients and thus, replication in independent and larger groups is necessary. Second, we used one of the available approaches to process DTI images (i.e., TBSS). Despite it has been reported to circumvent some of the issues of misalignment, partial voluming and smoothing of data (Smith et al., 2006) compared with the conventional voxel-based morphometry (VBM) approach (Ashburner and Friston, 2001), we cannot rule out the putative artifacts derived from intensive computer processing of the data. Additionally, the use of the T2 weighted volume (B0) to exclude evidence of cerebrovascular disease is a clear limitation due to the low spatial resolution of these images. Hence, despite none of our cases showed important WM damage according to basic ratings and groups did not differ in this variable, it is clearly acknowledged that use of B0 volumes to exclude cerebrovascular damage needs to be improved in further studies by using other images of higher quality for these purposes. Finally, variables previously associated with white matter integrity such as hypertension, diabetes mellitus or other vascular risk factors which could have influenced our results were not statistically controlled in this study.

## Acknowledgements

This work was funded by a Spanish Ministerio de Educación y Ciencia research project award (SAF2007-66,270.) and the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2009-07,489) to David Bartrés-Faz and fundings from the Generalitat de Catalunya to the Neuropsychology Research Group (2009SGR941). The authors thank Silvia Juanes for her help in data processing and statistical analyses. The authors disclose any conflicts of interest.

## References

- Acosta-Cabronero, J., Williams, G.B., Pengas, G., Nestor, P.J., 2009. Absolute diffusivities define the landscape of white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Brain*, Nov 13. [Epub ahead of print].
- Alexander, A.L., Lee, J.E., Lazar, M., Field, A.S., 2007. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics* 4, 316–329.
- Ashburner, J., Friston, K.J., 2001. Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage* 14, 1238–1243.
- Bai, F., Zhang, Z., Watson, D.R., Yu, H., Shi, Y., Yuan, Y., Qian, Y., Jia, J., 2009. Abnormal integrity of association fiber tracts in amnesic mild cognitive impairment. *J. Neurol. Sci.* 278, 102–106.
- Balthazar, M.L., Yasuda, C.L., Pereira, F.R., Pedro, T., Damasceno, B.P., Cendes, F., 2009. Differences in grey and white matter atrophy in amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* 16, 468–474.
- Bartzokis, G., 2004. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 25, 5–18.
- Bartzokis, G., Lu, P.H., Mintz, J., 2007. Human brain myelination and amyloid beta deposition in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 3, 122–125.
- Basser, P.J., Pierpaoli, C., 1996. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J. Magn. Reson. B* 111, 209–219.
- Beaulieu, C., 2002. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system—a technical review. *NMR Biomed.* 15, 435–455.
- Bennett, I.J., Madden D.J., Vaidya C.J., Howard, D.V., Howard J.H., 2009. Age-related differences in multiple measures of white matter integrity: a diffusion tensor imaging study of healthy aging. *Hum. Brain Mapp.*, Aug 6. [Epub ahead of print].
- Bozzali, M., Falini, A., Franceschi, M., Cercignani, M., Zuffi, M., Scotti, G., Comi, G., Filippi, M., 2002. White matter damage in Alzheimer's disease assessed in vivo using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 72, 742–746.
- Brun, A., Englund, E., 1986. White matter disorder in dementia of the Alzheimer type: a pathoanatomical study. *Ann. Neurol.* 19, 253–262.
- Chalmers, K., Wilcock, G., Love, S., 2005. Contributors to white matter damage in the frontal lobe in Alzheimer's disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 31, 623–631.
- Charlton, R.A., Barrick, T.R., McIntyre, D.J., Shen, Y., O'Sullivan, M., Howe, F.A., Clark, C.A., Morris, R.G., Markus, H.S., 2006. White matter damage on diffusion tensor imaging correlates with age-related cognitive decline. *Neurology* 66, 217–222.
- Chen, T.F., Lin, C.C., Chen, Y.F., Liu, H.M., Hua, M.S., Huang, Y.C., Chin, M.J., 2009. Diffusion tensor changes in patients with amnesic mild cognitive impairment and various dementias. *Psychiatry Res.* 173, 15–21.
- Damoiseaux, J.S., Smith, S.M., Witter, M.P., Sanz-Arigita, E.J., Barkhof, F., Scheltens, P., Stam, C.J., Zarei, M., Rombouts, S.A., 2009. White matter tract integrity in aging and Alzheimer's disease. *Hum. Brain Mapp.* 30, 1051–1059.
- Davis, S.W., Dennis, N.A., Buchler, N.G., White, L.E., Madden, D.J., Cabeza, R., 2009. Assessing the effects of age on long white matter tracts using diffusion tensor tractography. *Neuroimage* 46, 530–541.
- Duan, J.H., Wang, H.Q., Xu, J., Lin, X., Chen, S.Q., Kang, Z., Yao, Z.B., 2006. White matter damage of patients with Alzheimer's disease correlated with the decreased cognitive function. *Surg. Radiol. Anat.* 28, 150–156.
- Ebeling, U., von Cramon, D., 1992. Topography of the uncinate fascicle and adjacent temporal fiber tracts. *Acta Neurochir.* 115, 143–148.
- Englund, E., 1998. Neuropathology of white matter changes in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 9 (suppl 1), 6–12.
- Fazekas, F., Chawluk, J.B., Alavi, A., Hurtig, H.I., Zimmerman, R.A., 1987. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am. J. Roentgenol.* 149, 351–356.
- Fellgiebel, A., Wille, P., Müller, M.J., Winterer, G., Scheurich, A., Vucurevic, G., Schmidt, L.G., Stoeter, P., 2004. Ultrastructural hippocampal and white matter alterations in mild cognitive impairment: a diffusion tensor imaging study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 18, 101, 108.
- Fellgiebel, A., Müller, M.J., Wille, P., Dellani, P.R., Scheurich, A., Schmidt, L.G., Stoeter, P., 2005. Color-coded diffusion-tensor-imaging of posterior cingulate fiber tracts in mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* 26, 1193–1198.
- Fellgiebel, A., Schermuly, I., Gerhard, A., Keller, I., Albrecht, J., Weibrich, C., Müller, M.J., Stoeter, P., 2008. Functional relevant loss of long association fibre tracts integrity in early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 46, 1698–1706.
- Goodglass, H., Kaplan, E., 1972. *The Assessment of Aphasia and Related Disorders*. Lea Febiger, Philadelphia.
- Gold, G., Giannakopoulos, P., Herrmann, F.R., Bouras, C., Kövari, E., 2007. Identification of Alzheimer and vascular lesion thresholds for mixed dementia. *Brain* 130, 2830–2836.
- Gouw, A.A., Seewann, A., Vrenken, H., van der Flier, W.M., Rozemuller, J.M., Barkhof, F., Scheltens, P., Geurts, J.J., 2008. Heterogeneity of white matter hyperintensities in Alzheimer's disease: post-mortem quantitative MRI and neuropathology. *Brain* 131, 3286–3298.
- Grieve, S.M., Williams, L.M., Paul, R.H., Clark, C.R., Gordon, E., 2007. Cognitive aging, executive function, and fractional anisotropy: a diffusion tensor MR imaging study. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 28, 226–235.
- Grober, E., Buschke, H., 1987. Genuine memory deficits in dementia. *Dev. Neuropsychol.* 3, 13–36.
- Hanyu, H., Sakurai, H., Iwamoto, T., Takasaki, M., Shindo, H., Abe, K., 1998. Diffusion-weighted MR imaging of the hippocampus and temporal white matter in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* 156, 195–200.
- Harsan, L.A., Pulet, P., Guignard, B., Steibel, J., Parizel, N., de Sousa, P.L., Boehm, N., Greucker, D., Ghandour, M.S., 2006. Brain dysmyelination and recovery assessment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J. Neurosci. Res.* 83, 392–402.
- Heo, J.H., Lee, S.T., Chu, K., Park, H.J., Shim, J.Y., Kim, M., 2009. White Matter Hyperintensities and Cognitive Dysfunction in Alzheimer Disease. *J. Geriatr. Psychiatry*, May 11. [Epub ahead of print].
- Huang, J., Auchus, A.P., 2007. Diffusion tensor imaging of normal appearing white matter and its correlation with cognitive functioning in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1097, 259–264.
- Huang, J., Friedland, R.P., Auchus, A.P., 2007. Diffusion tensor imaging of normal-appearing white matter in mild cognitive impairment and early Alzheimer disease: preliminary evidence of axonal degeneration in the temporal lobe. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 28, 1943–1948.
- Jones, D.K., Symms, M.R., Cercignani, M., Howard, R.J., 2005. The effect of filter size on VBM analyses of DT-MRI data. *Neuroimage* 26, 546–554.

- Kantarci, K., Jack, J.R., Xu, Y.C., Campeau, N.G., O'Brien, P.C., Smith, G.E., Ivnik, R.J., Boeve, B.F., Kokman, E., Tangalos, E.G., Petersen, R.C., 2001. Mild cognitive impairment and Alzheimer disease; regional diffusivity of water. *Radiology* 219, 101–107.
- Kiuchi, K., Morikawa, M., Taoka, T., Nagashima, T., Yamauchi, T., Makinodan, M., Norimoto, K., Hashimoto, K., Kosaka, J., Inoue, Y., Inoue, M., Kichikawa, K., Kishimoto, T., 2009. Abnormalities of the uncinate fasciculus and posterior cingulate fasciculus in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease: A diffusion tensor tractography study. *Brain Res.*, Jun 24 [Epub ahead of print].
- Le Bihan, D., Mangin, J.F., Poupon, C., Clark, C.A., Pappata, S., Molko, N., Chabriat, H., 2001. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J. Magn. Reson. Imaging* 13, 534–546.
- Lezak, D., Howieson, D.B., Loring, D.W., Hannay, H.J., Fischer, J.S., 2004. *Neuropsychological Assessment*. Oxford University Press, New York.
- Li, S., Pu, F., Shi, F., Xie, S., Wang, Y., Jiang, T., 2008. Regional white matter decreases in Alzheimer's disease using optimized voxel-based morphometry. *Acta Radiol.* 49, 84–90.
- Liu, Y., Spulber, G., Lehtimäki, K.K., Könönen, M., Hallikainen, I., Kivipelto, K., Hallikainen, M., Vanninen, R., Soininen, H., 2009. Diffusion tensor imaging and Tract-Based Spatial Statistics in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging*, Nov 11. [Epub ahead of print].
- Marengo, S., Rawling, S., Rohde, G.K., Barnett, A.S., Honea, R.A., Pierpaoli, C., Weinberger, D.R., 2006. Regional distribution of measurement error in diffusion tensor imaging. *Psychiatry Res.* 147, 69–78.
- Martino, J., Brogna, C., Robles, S.G., Vergani, F., Duffau, H., 2009. Anatomic dissection of the inferior fronto-occipital fasciculus revisited in the lights of brain stimulation data. *Cortex*, Aug 29. [Epub ahead of print].
- McDonald, C.R., McEvoy, L.K., Gharapetian, L., Fennema-Notestine, C., Hagler, D.J., Jr, Holland, D., Koyama, A., Brewer, J.B., Dale, A.M., 2009. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Regional rates of neocortical atrophy from normal aging to early Alzheimer disease. *Neurology* 73, 457–465.
- Medina, D., DeToledo-Morrell, L., Urresta, F., Gabrieli, J.D., Moseley, M., Fleischman, D., Bennett, D.A., 2006. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiol. Aging* 27, 663–672.
- Mielke, M.M., Kozauer, N.A., Chan, K.C., George, M., Toroney, J., Zerrate, M., Bandeen-Roche, K., Wang, M.C., Vanzijl, P., Pekar, K.K., Moris, S., Lyketros, C.G., Albert, M., 2009. Regionally-specific diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage* 46, 47–55.
- Morris, J.C., Heyman, A., Mohs, R.C., Hughes, J.P., van Belle, G., Fillenbaum, G., Mellits, E.D., Clark, C., 1989. The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 39, 1159–1165.
- Nakata, Y., Sato, N., Nemoto, K., Abe, O., Shikakura, S., Arima, K., Furuta, N., Uno, M., Hirai, S., Masutani, Y., Ohtomo, K., BarKovich, A.J., Aoki, S., 2009. Diffusion abnormality in the posterior cingulum and hippocampal volume: correlation with disease progression in Alzheimer's disease. *Magn. Reson. Imaging* 27, 347–354.
- Petrides, M., Pandya, D.N., 1988. Association fiber pathways to the frontal cortex from the superior temporal region in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 273, 52–66.
- Qiu, D., Tan, L.H., Zhou, K., Khong, P.L., 2008. Diffusion tensor imaging of normal white matter maturation from late childhood to young adulthood: voxel-wise evaluation of mean diffusivity, fractional anisotropy, radial and axial diffusivities, and correlation with reading development. *Neuroimage* 41, 223–232.
- Rami, L., Gómez-Anson, B., Sanchez-Valle, R., Bosch, B., Monte, G.C., Lladó, A., Molinuevo, J.L., 2007. Longitudinal study of amnesic patients at high risk for Alzheimer's disease: clinical, neuropsychological and magnetic resonance spectroscopy features. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 24, 402–410.
- Rose, S.E., McMahon, K.L., Janke, A.L., O'Dowd, B., de Zubicaray, G., Strudwick, M.W., Chalk, J.B., 2006. Diffusion indices on magnetic resonance imaging and neuropsychological performance in amnesic mild cognitive impairment. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 77, 1122–1128.
- Salat, D.H., Tuch, D.S., van der Kouwe, A.J., Greve, D.N., Pappu, V., Lee, S.Y., Hevelone, N.D., Zaleta, A.K., Growdon, J.H., Corkin, S., Fischl, B., Rosas, H.D., 2010. White matter pathology isolates the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 31, 244–256.
- Salat, D.H., Greve, D.N., Pacheco, J.L., Quinn, B.T., Helmer, K.G., Buckner, R.L., Fischl, B., 2009. Regional white matter volume differences in nondemented aging and Alzheimer's disease. *Neuroimage* 44, 1247–1258.
- Schiavone, F., Charlton, R.A., Barrick, T.R., Morris, R.G., Markus, H.S., 2009. Imaging age-related cognitive decline: A comparison of diffusion tensor and magnetization transfer MRI. *J. Magn. Reson. Imaging* 29, 23–30.
- Smith, S.M., Zhang, Y., Jenkinson, M., Chen, J., Matthews, P.M., Federico, A., De Stefano, N., 2002. Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage* 17, 479–489.
- Smith, S.M., Jenkinson, M., Woolrich, M.W., Beckmann, C.F., Behrens, T.E., Johansen-Berg, H., Bannister, P.R., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D.E., Niazy, R.K., Saunders, S., Vickers, J., Zhang, Y., De Stefano, N., Brady, J.M., Matthews, P.M., 2004. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 23 (suppl 1), S208–S219.
- Smith, S.M., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Rueckert, D., Nichols, T.E., Mackay, C.E., Watkins, K.E., Ciccarelli, O., Cader, M.Z., Mattioli, P.M., Behrens, T.E., 2006. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 31, 1487–1505.
- Smith, S.M., Johansen-Berg, H., Jenkinson, M., Rueckert, D., Nichols, T.E., Miller, K.L., Robson, M.D., Jones, D.K., Klein, J., Bartsch, A.T., Behrens, T.E., 2007. Acquisition and voxelwise analysis of multi-subject diffusion data with tract-based spatial statistics. *Nat. Protoc.* 2, 499–503.
- Solé-Padullés, C., Bartrés-Faz, D., Junqué, C., Vendrell, P., Rami, L., Clemente, I.C., Bosch, B., Villar, A., Bargalló, N., Jurado, M.A., Barrios, M., Molinuevo, J.L., 2009. Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 30, 1114–1124.
- Song, S.K., Yoshino, J., Le, T.Q., Lin, S.J., Sun, S.W., Cross, A.H., Armstrong, R.C., 2005. Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain. *Neuroimage* 26, 132–140.
- Stout, J.C., Jernigan, T.L., Archibald, S.L., Salmon, D.P., 1996. Association of dementia severity with cortical gray matter and abnormal white matter volumes in dementia of the Alzheimer type. *Arch. Neurol.* 53, 742–749.
- Stricker, N.H., Schweinsburg, B.C., Delano-Wood, L., Wierenga, C.E., Bangen, K.J., Haaland, K.Y., Frank, L.R., Salmon, D.P., Bondi, M.W., 2009. Decreased white matter integrity in late-myelinating fiber pathways in Alzheimer's disease supports retrogenesis. *Neuroimage* 45, 10.
- Sullivan, E.V., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., 2008. Quantitative fiber tracking of lateral and interhemispheric white matter systems in normal aging: Relations to timed performance. *Neurobiol. Aging*, May 19 [Epub ahead of print].
- Sundgren, P.C., Dong, Q., Gómez-Hassan, D., Mukherji, S.K., Maly, P., Welsh, R., 2004. Diffusion tensor imaging of the brain: review of clinical applications. *Neuroradiology* 46, 339–350.
- Taoka, T., Iwasaki, S., Sakamoto, M., Nakagawa, H., Fukusumi, A., Myochin, K., Hirohashi, S., Hoshida, T., Kichikawa, K., 2006. Diffusion anisotropy and diffusivity of white matter tracts within the temporal stem in Alzheimer disease: evaluation of the "tract of

- interest" by diffusion tensor tractography. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 27, 1040–1045.
- Tyszka, J.M., Readhead, C., Bearer, E.L., Pautler, R.G., Jacobs, R.E., 2006. Statistical diffusion tensor histology reveals regional dysmyelination effects in the shiverer mouse mutant. *Neuroimage* 29, 1058–1065.
- Ungerleider, L.G., Gaffan, D., Pelak, V.S., 1989. Projections from inferior temporal cortex to prefrontal cortex via the uncinate fascicle in rhesus monkeys. *Exp. Brain Res.* 76, 473–484.
- Walhovd, K.B., Fjell, A.M., Amlie, I., Gramsage, R., Stenset, V., Bjørnerud, A., Reinvag, I., Gjerstad, L., Cappelen, T., Due-Tønnessen, P., Fladby, T., 2009. Multimodal imaging in mild cognitive impairment: Metabolism, morphometry and diffusion of the temporal-parietal memory network. *Neuroimage* 45, 215–223.
- Wallin, A., Gottfries C.G., Karlsson I., Svennerholm L., 1989. Decreased myelin lipids in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Acta Neurol. Scand.* 80, 319–323.
- Wang, L., Goldstein, F.C., Veledar, E., Levey, A.I., Lah, J.J., Meltzer, C.C., Holder, C.A., Mao, H., 2009. Alterations in cortical thickness and white matter integrity in mild cognitive impairment measured by whole-brain cortical thickness mapping and diffusion tensor imaging. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 30, 893–899.
- Warrington, E.K., James, M. The visual object and space perception battery. In *Thames Valley Test*. Suffolk: Bury St. Edmunds, 1991.
- Xie, S., Xiao, J.X., Wang, Y.H., Wu, H.K., Gong, G.L., Jiang, X.X., 2005. Evaluation of bilateral cingulum with tractography in patients with Alzheimer's disease. *Neuroreport* 16, 1275–1278.
- Xie, S., Xiao, J.X., Gong, G.L., Zang, Y.F., Wang, Y.H., Wu, H.K., Jiang, X.X., 2006. Voxel-based detection of white matter abnormalities in mild Alzheimer disease. *Neurology* 66, 1845–1849.
- Yasmin, H., Nakata, Y., Aoki, S., Abe, O., Sato, N., Nemoto, K., Arima, K., Furuta, N., Uno, M., Hirai, S., Masutani, Y., Ohtomo, K., 2008. Diffusion abnormalities of the uncinate fasciculus in Alzheimer's disease: diffusion tensor tract-specific analysis using a new method to measure the core of the tract. *Neuroradiology* 50, 293–299.
- Yoshita, M., Fletcher, E., Harvey, D., Ortega, M., Martinez, O., Mungas, D.M., Reed, B.R., DeCarli, C.S., 2006. Extent and distribution of white matter hyperintensities in normal, aging, MCI, and AD. *Neurology* 67, 2192–2198.
- Yoshiura, T., Mihara, F., Koga, H., Ohyagi, Y., Noguchi, T., Togao, O., Ogomiri, K., Miyoshi, K., Yamasaki, T., Kaneko, K., Ichimya, A., Kamba, S., Honda, H., 2006. Mapping of subcortical white matter abnormality in Alzheimer's disease using diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Acad. Radiol.* 13, 1460–1464.
- Zahr, N.M., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., Sullivan, E.V., 2009. Problem solving, working memory, and motor correlates of association and commissural fiber bundles in normal aging: a quantitative fiber tracking study. *Neuroimage* 44, 1050–1062.
- Zhang, Y., Schuff, N., Jahng, G.H., Bayne, W., Mori, S., Schad, L., Mueller, S., Du, A.T., Kramer, J.H., Yaffe, K., Chi, H., Jagust, W.J., Miller, B.L., Weiner, M.W., 2007. Diffusion tensor imaging of cingulum fibers in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology* 68, 13–19.
- Zhang, Y., Du, A.T., Hayasaka, S., Jahng, G.H., Hlavín, J., Zhan, W., Weiner, M.W., Schuff, N., 2008. Patterns of age-related water diffusion changes in human brain by concordance and discordance analysis. *Neurobiol. Aging*, Nov 24. [Epub ahead of print].

## **ESTUDIO II: Specific anatomical associations between white matter integrity and cognitive reserve in normal and cognitively impaired elders**

### **OBJETIVOS**

- Investigar la relación entre las variables de RC y la integridad de la sustancia blanca.
- Investigar si existe una especificidad anatómica para esta asociación (relación RC y SB) cuando se considera el envejecimiento sano vs. el envejecimiento patológico, partiendo de las áreas identificadas en el Estudio I.

### **RESULTADOS**

En este segundo estudio se objetiva que la integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, en el hemisferio derecho, así como en el genum del cuerpo callosos, en el cíngulo y en los fascículos longitudinales superior e inferior mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores, principalmente en áreas del hemisferio posterior izquierdo, del fascículo uncinado y de los haces frontocipitales y cíngulo. La media de los valores de AF para el grupo de pacientes con DCL-a también fue inferior que en los ancianos sanos.

Una vez caracterizadas las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano y patológico se estudió si existía relación entre la integridad de la sustancia blanca y la RC. Los resultados muestran asociaciones inversas entre la RC y los parámetros estructurales derivados de la RM, específicamente en la microestructura de SB.

Igualmente se investigó si existía especificidad anatómica para la asociación entre RC y SB en zonas que presentan compromiso relacionado con la edad, así como en regiones que se dan cambios patológicos. Se evidencia que esta asociación se implementa en distintas regiones cerebrales según se considere envejecimiento sano o patológico. Los sujetos control mostraron una correlación más negativa entre RC e integridad de SB que DCL-a y EA. Así, la influencia de la RC, en envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma

fisiológica con la edad, mientras que en los pacientes con DCL-a la misma asociación negativa se observa en regiones con afectación patológica

Se realizó el seguimiento a dos años de los pacientes con DCL-a, se encontró que todos los pacientes que convirtieron a EA obtuvieron puntuaciones elevadas de RC.



# Specific Anatomic Associations Between White Matter Integrity and Cognitive Reserve in Normal and Cognitively Impaired Elders

*Eider M. Arenaza-Urquijo, M.Sc.*

*Beatriz Bosch, M.Sc.*

*Roser Sala-Llonch, M.Sc.*

*Cristina Solé-Padullés, Ph.D.*

*Carme Junqué, Ph.D.*

*Davinia Fernández-Espejo, M.Sc.*

*Núria Bargalló, M.D., Ph.D.*

*Lorena Rami, Ph.D.*

*José Luis Molinuevo, M.D., Ph.D.*

*David Bartrés-Faz, Ph.D.*

---

**Objectives:** To investigate the associations between white matter (WM) integrity and cognitive reserve (CR) in healthy elders (HE), amnesic mild cognitive impairment (a-MCI), and Alzheimer disease (AD). The authors studied correlations between CR and WM integrity in regions showing WM age-related effects or pathologic changes and tested the differences of slopes between groups. **Methods:** Diffusion tensor images (DTIs) were obtained from 18 young individuals, 15 HE, 16 a-MCI cases, and 15 AD cases. Tract-based spatial statistics was used to process DTI data. Areas showing age-related fractional anisotropy (FA) shrinkages (HE < young) and pathology-related FA network ("AD < HE") were defined. Correlations between CR and WM integrity were adjusted for age,

gender, memory performance, and brain volumes. **Results:** HE presented more negative correlations between CR and WM integrity than patients with a-MCI and AD in age-related areas, such as the genum of the corpus callosum. However, these results were mediated by normal variability in memory function and brain volumes. For patients with a-MCI, negative associations between CR and FA were found in several major tracts, being more robust than in AD group. Although longitudinal results need to be interpreted with caution because of the reduced sample of patients with MCI, after 2 years of follow-up, all patients who progressed to AD had high-CR scores, suggesting a putative link between reduced WM integrity (maximal in patients with high CR) and risk of progression to AD. **Conclusions:** CR correlates are implemented in different anatomic WM areas in HE and patients with a-MCI. Healthy elders with high CR may present better tolerance of typical age-related effects on WM integrity; in patients with a-MCI, the association may reflect increased capacity to cope with incipient cerebral damage. (Am J Geriatr Psychiatry 2010; ●:000-000)

**Key Words:** Cognitive reserve, diffusion tensor imaging, aging, mild cognitive impairment, Alzheimer disease

---

In ageing and dementia, cognitive reserve (CR) reflects the capacity of the brain to endure age-related changes and/or neuropathology, because it is predicted that those individuals with high-CR ratings, through more efficient cognitive processing capacities, will be able to tolerate advanced brain damage (or age-related changes) minimizing its impact on clinical and cognitive manifestations.<sup>1</sup> CR is measured from clinical evaluations capturing lifetime exposure to intellectual, social/leisure, and physical activities.<sup>2</sup> Increasing our knowledge of the neural implementation of CR is not only of scientific interest but also may be clinically relevant, because CR status

---

Received July 16, 2009; revised February 10, 2010; accepted February 28, 2010. From the Department de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica (EMA-U, CJ, DF-E, DBF), Universitat de Barcelona, Catalonia, Spain; Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders Unit (BB, RS-L, CS-P, LR, JLM), Neurology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain; Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) (CJ, NB, JLM, DB-F), Catalonia, Spain; Radiology Service (NB), Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain; and CIBER-BBN, Barcelona, Catalonia, Spain. Send correspondence and reprint requests to David Bartrés-Faz, Ph.D., Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain; e-mail: dbartres@ub.edu

© 2010 American Association for Geriatric Psychiatry

is associated with a reduced risk of developing dementia and accelerated progression of the disease.<sup>1,3</sup>

In previous neuroimaging studies including healthy elders (HE), mild cognitive impairment (MCI), and Alzheimer disease (AD) cases,<sup>4,5</sup> we observed more direct correlations between the main proxies of CR and brain activity as measured by functional magnetic resonance imaging (fMRI), than for whole brain or gray matter (GM) atrophy. These correlations were mainly evidenced in areas that are early compromised in AD, such as the superior temporal lobe<sup>4</sup> or the posterior cingulate cortex.<sup>5</sup> These results provided support for the active model of CR, which posits that patients with high CR can compensate brain damage by using more efficiently neural networks underlying cognitive performance.<sup>1</sup> However, the findings also suggested the need to study more sensitive anatomic substrates associated with this construct. One of these cerebral structural substrates could be white matter (WM) status, as indeed, recent evidence indicates that education and aerobic fitness, which are two of the variables commonly included in CR evaluations, are associated with WM volume in HE.<sup>6,7</sup> In addition, reports from two independent studies including large samples of elders revealed that WM pathology, as reflected by MRI-based measures of white matter hyperintensities (WMHs), was related to reduced cognitive performance among elders with low educational level, whereas highly educated individuals performed better on cognitive evaluations and exhibited no negative modulation of WMH, implying increased tolerance of their brains in front of WM damage, minimizing cognitive manifestations.<sup>8,9</sup>

Based on this previous evidence linking WM status with variables commonly included in CR evaluations, the objective of this report was to provide information on the relationship between comprehensive measures of CR and more refined evaluations of white matter integrity, using diffusion tensor imaging (DTI). For all DTI analyses, we focused on fractional anisotropy (FA), a parameter that provides quantitative measures of the integrity of WM fiber tracts. We used tract-based spatial statistics (TBSS), a method that allows exploratory whole-brain voxel-based analyses and circumvents some of the issues of misalignment and partial voluming associated with conventional voxel-based morphometry approaches.

TBSS also provides increased reliability and more anatomic localization for group differences.<sup>10</sup>

To our knowledge, only one study has considered the associations between measures of CR (education and occupation) and WM integrity using DTI in HE and patients with AD.<sup>11</sup> This report focused on three groups of subjects: HE, patients with MCI, and patients with AD. Following our previous studies,<sup>4,5,12</sup> the reason for focusing on these groups was to explore how CR allows individuals to cope with WM damage, as we move from normal elder brains to patients showing MCI or initial stages of dementia. In this investigation and conducting whole-brain analyses, we were particularly interested in testing specific interactions between CR and WM microstructure in areas identified as showing age-related compromises and in regions exhibiting pathologic WM changes. We used this approach in view of our earlier findings in which functional brain correlates of CR were more likely to be identified in regions showing early pathologic damage among patients with AD<sup>4</sup> and in areas reflecting typical age-related changes in HE.<sup>12</sup>

---

## METHODS

### Subjects

Sixty-four subjects were recruited, including 18 young volunteers (mean age: 22.5 years, SD: 1.6, 10 women), 15 HE (age: 74.1 years, SD: 6.1, 10 women; Mini-Mental State Examination [MMSE]: 27.7, SD: 1.5), 16 patients with the amnesic variant of MCI (a-MCI, age: 74.6 years, SD: 6.9, 10 women; MMSE: 25.5, SD: 2.0), and 15 patients with AD (age: 75.27 years; 8 women; MMSE: 21.4, SD: 3.1). All participants were recruited from patients and their spouses at the AD and related cognitive disorders unit of the Neurology Service at the Hospital Clinic, Barcelona, Spain. None of the participants selected had a medical history of acute neurologic deficit compatible with TIA or stroke, or radiologic evidence of stroke. All elderly participants underwent clinical and neuropsychological evaluations. The diagnostic procedures used to classify individuals into the above-mentioned groups have been described elsewhere.<sup>13</sup> Briefly, healthy individuals did not meet criteria for

dementia, presented no cognitive complaints, and their cognitive performance was not less than  $-1.5$  SD on an episodic memory test or on any other test included in the neuropsychological examinations of language, praxis, gnosis, and abstract reasoning. Patients with a-MCI were prospectively selected only if they presented the amnesic form of the disorder. They reported complaints of memory function and scores less than  $-1.5$  SD on an episodic memory test, whereas their remaining cognitive functions and activities of daily living were within the normal range. After a mean period of 2 years after inclusion, all patients with a-MCI were reevaluated clinically and cognitively to determine whether they had progressed to dementia or remained stable. An interdisciplinary clinical committee formed by two neurologists and one neuropsychologist using the National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer disease and Related Disorders Association criteria established probable AD diagnosis. All patients with AD were in the mild stages of the disease (Global Deterioration Scale Score = 4).

The sample of young individuals was included in this investigation only to isolate areas with age-related FA changes (see below). All elderly groups underwent clinical and neuropsychological assessments with the procedures used previously in our group.<sup>4</sup> Groups did not differ in terms of age ( $F = 1.1$ ,  $df = 2,45$ ,  $p = 0.4$ ) or gender distributions ( $\chi^2 = 0.3$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.4$ ), but MMSE scores were lower in both patient groups than in the HE group ( $F = 29.1$ ,  $df = 2,45$ ,  $p < 0.001$ ; post-hoc T3 Dunnett (mean differences and  $p$  values) based on heterogeneous variances (Levene test = 6.40,  $p = 0.004$ ): HE versus a-MCI: 2.17,  $p < 0.02$ ; HE versus patients with AD: 6.27,  $p < 0.001$ ) and in patients with AD compared with patients with a-MCI (4.10,  $p < 0.001$ ).

Proxies of CR were estimated using three main variables reflecting the ones commonly used in the CR literature<sup>14</sup> and in our previous studies.<sup>4,12</sup> The first was the Vocabulary Subtest of the WAIS 3rd version (WAIS-III), administered as a measure of premorbid IQ.<sup>15</sup> A second CR variable was defined as "education-occupation" and included quantifications coded as in a previous report<sup>16</sup>: 0 = no formal education, 1 = primary school, 2 = secondary education, and 3 = superior or university education; and as regards occupation: 0 = nonqualified, 1 = quali-

fied manual, 2 = qualified nonmanual or technician, 3 = professional (university degree required), and 4 = manager or director (university degree required). The final score was obtained by adding the education and occupation values (range: 0–7). A third proxy recorded lifetime occupations in leisure and cognitively stimulating activities, such as reading, writing, music playing, as well as sports and walking (physical activities), and participation in social activities or groups, associations, and voluntary work (social life activities).<sup>17</sup> These measures were compiled in a customized questionnaire (the higher the score, the greater the CR). The questionnaire was administered directly to each subject; in the case of patients, this was done in the presence of their relatives to ensure the validity of the data provided. Finally, to summarize the information relating the three CR variables, a composite CR score was obtained for each subject by using factor analyses (principal component methods) and following the procedure described by Stern et al.<sup>14</sup> The single factor extracted (composite CR) accounted for 62.3% of the common variance of these three measures.

### MRI Acquisition and DTI Processing

All subjects were examined on a 3T MRI scanner (Magnetom Trio Tim; Siemens Medical Systems, Germany). Diffusion-weighted images were acquired using an echo-planar imaging sequence (30 directions, TR = 5600 msec, TE = 89 msec, 49 slices; slice thickness = 2 mm, distance factor = 30%, FOV = 100 mm, and matrix size =  $122 \times 122$ ). This sequence also provides a T2-weighted volume (B0), which was used to rate WMHs. Specifically, a board-certified neuroradiologist (N.B.) rated all images using the Fazekas scale.<sup>18</sup> Thus, cases with above normal age-related WM damage or with ratings of three on the abovementioned scale were excluded. Because of this, some WM abnormalities were observed in our sample, probably age related (all 46 cases with Fazekas score range: 1–2 (mean: 1.13, SD: 0.63). A high-resolution 3D structural dataset (T1-weighted MPRAGE, TR = 2300 msec, TE = 2.98 msec; FOV =  $100 \times 100$  cm; matrix size =  $256 \times 256$ ; Flip angle =  $9^\circ$ ; and Slice thickness = 1.) was also acquired to coregister with the DTI data.

DTI processing and voxel-wise statistical analysis were performed with FSL v4.0 software.<sup>10</sup> We calcu-

lated an FA image from each subject using FDT FSL toolbox and Brain Extraction Tool of applied FSL. Nonlinear transforms were applied to obtain FA images aligned to standard space, the resulting images being merged into single 4D images. Mean FA image was fed into skeletonization program obtaining the mean FA skeleton, which was thinned (threshold 0.25) to identify all the fiber pathways consistent across subjects. Finally, FA data were projected onto the thresholded mean FA skeleton and a 4 Da image was created.

### Data Analysis

Detailed descriptions of DTI differences across groups and correlations with neuropsychological performance were not the primary objective of this report, which focused on DTI  $\times$  CR associations. We proceeded as follows: first, we conducted whole-brain correlations between CR and FA for each clinical group separately and studied the areas of interaction (i.e., regions at which the slope of the regression between CR and FA differed between groups). We then isolated WM areas showing age-related FA shrinkages (HE < young controls) and regions exhibiting loss of WM integrity associated with dementia (AD < HE). Finally, direct correlations between CR and FA and group interactions were computed within these two regions using a voxel-based approach comprising the whole mask by means of TBSS. These results were corrected for multiple comparisons across voxels (FWE corrected).

For clinical, demographic, and cognitive variables analysis of variances with Scheffé's post-hoc comparisons (or T3 Dunnett test for samples with nonhomogeneous variables) and  $\chi^2$  were used using SPSS (v.14.0), considering  $p \leq 0.05$  to be statistically significant. Because of the low sample sizes, for the demographic and clinical comparisons between the a-MCI converter and a-MCI stable subgroups (see Results section), the Mann-Whitney U test and the Fisher's exact test were used when appropriate. Probability values for the DTI-based voxelwise correlations between CR and FA and for the interaction were estimated using a simple permutation program (randomize) with a standard GLM design (permutations = 5000, threshold  $p < 0.05$  corrected for multiple comparisons). These latter analyses were adjusted for age, gender, whole-brain volumes, and cognitive performance. Corrected whole-brain vol-

ume for each individual was obtained with the following formulae:  $(GM + WM)/(GM + WM + CSF)$ . Cognitive performance was used to adjust the analyses and was estimated by calculating a composite memory score per individual, which included the mean standardized individual scores of the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer Disease recognition visual memory test<sup>19</sup> as well as the Grober and Buschke<sup>20</sup> Free and Cued Selective Reminding test (total free recall and delayed free recall subtests).

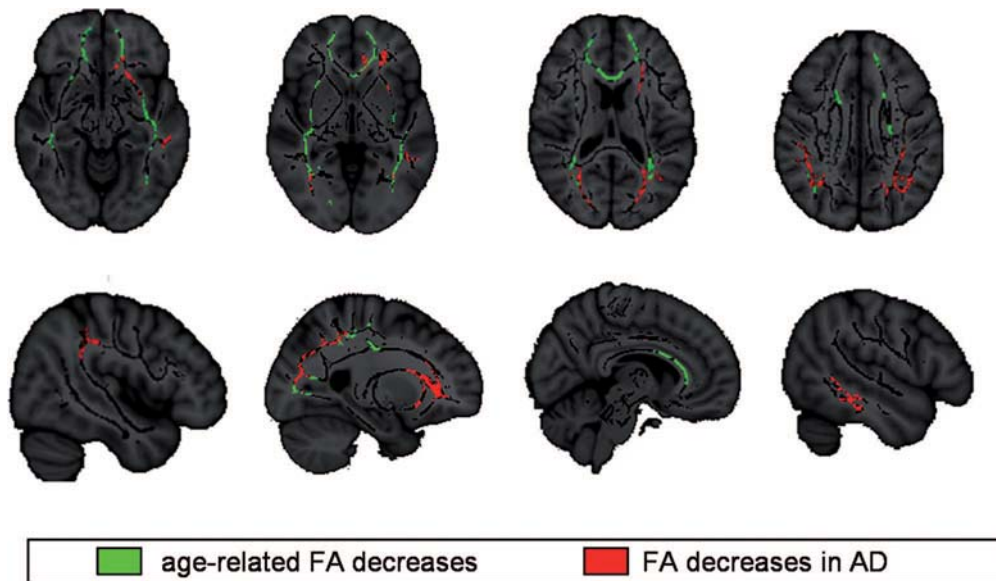
---

## RESULTS

The regions evidencing age-related FA decreases (HE < young subjects contrast) were mainly located in the anterior parts of the brain and in the right hemisphere including the genu of the corpus callosum, parts of the cingulate bundle, and the superior and inferior longitudinal fasciculi. The pathologic areas (AD < HE) mainly comprised the posterior left hemisphere involving the uncinate fasciculus and inferior fronto-occipital and cingulate bundles (Fig. 1). Both analyses were corrected for multiple comparisons across voxels (FWE corrected). The mean FA values within this latter network for the a-MCI group were also lower than HE (HE mean FA: 0.42, SD: 0.02; MCI mean FA: 0.38, SD: 0.03;  $t = 3.59$ ,  $p < 0.001$ ,  $df = 29$ ), evidencing incipient WM damage.

When contrasting the whole model (i.e., adjusted for age, gender, the composite memory score, and corrected whole-brain volumes) no significant interactions between CR and FA were found for HE. However, when removing the composite memory score and brain volumes from the equation (both with and without the MMSE as a further covariate), we observed a negative correlation between FA values and CR only when analyses were restricted to regions showing age-related FA shrinkages, which included the genu and the anterior parts of the body of the corpus callosum (Fig. 2). Within this region, correlation slopes between CR and FA were more negative for control subjects than for patients with MCI (Wald test between two correlation estimates against a chi-square distribution  $W = 14.12$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.052$ ) and AD ( $W = 9.77$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.019$ ; see Fig. 2). To further clarify the impact of the

**FIGURE 1.** Tract-based spatial statistics maps (FWE-corrected  $p < 0.05$ ) showing age-related physiologic changes in green (healthy elders < young subjects) and pathologic fractional anisotropy (FA) reductions in red (AD < healthy elders). See main text for an anatomic description



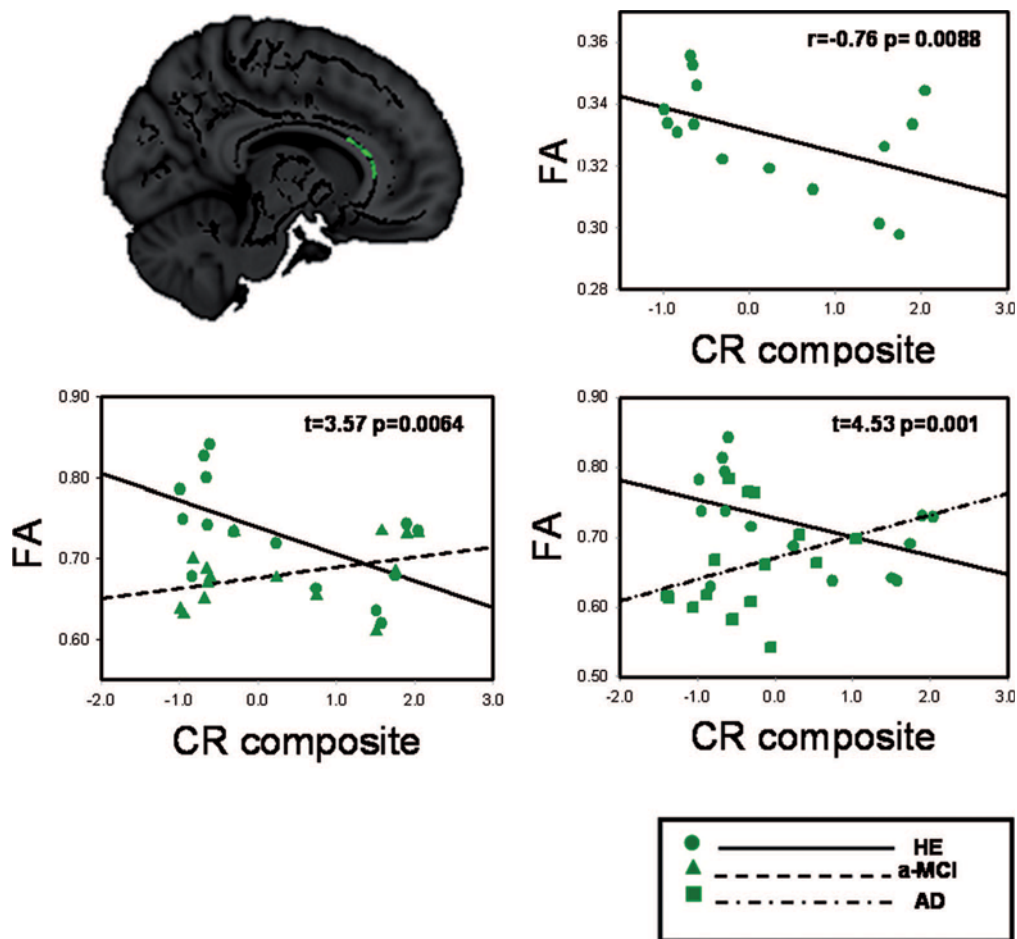
composite memory and whole-brain volume variables when testing  $CR \times FA$  associations in the HE group, complementary analyses were performed, which showed positive correlations between CR ratings and the composite memory score, after adjusting for age, gender, and mean FA values ( $r = 0.68$ ,  $p < 0.02$ ,  $df = 10$ ) or whole-brain volumes ( $r = 0.62$ ,  $p < 0.03$ ,  $df = 10$ ). These latter results suggest that some structural brain correlates other than FA or global brain volumes may be mediating the better memory performance in high-CR elders.

For a-MCI, significant negative correlations were seen between FA values and CR in whole-brain analyses, adjusting for age, gender, composite memory score, and corrected brain volumes ( $r = -0.48$ ,  $p = 0.001$ ). These included regions in the genum and callosal body, the cingulate bundle bilaterally, the inferior and superior longitudinal fasciculi, and the inferior fronto-occipital bundle. In general, right hemisphere FA measures sustained more negative correlations with CR than the left hemisphere measures. When focusing on age-related and pathology-associated FA networks, it was confirmed that loci in both regions showed negative correlations with CR for this group, although more extended regions were involved in the pathology-related network. Thus, for

areas showing age-related FA shrinkages, negative associations were found within the genum of the corpus callosum, whereas for pathology-related areas, an extended network was identified, involving the left superior longitudinal fasciculus, the uncinate bundle, the internal capsule, and the splenium of the corpus callosum. As regards the interactions, more negative associations between CR and FA emerged for MCI group than for the AD group ( $W = 7.21$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.021$ ) in the cingulate bundle, the genum of the CC, and the inferior fronto-occipital fasciculus (see Fig. 3A).

Regarding the results of the 2-year follow-up evaluation, we found that 5 of the 16 patients with a-MCI fulfilled criteria for AD (converter MCI), whereas the remaining cases ( $N = 11$ ) could still be classified as a-MCI (stable MCI). To investigate whether distinct levels of CR were related to the clinical progression, patients with MCI were categorized into two groups, high and low CR, with the 50th percentile scores as cutoff point. Comparing the proportion of cases progressing to AD in relation to this new variable, we found that 100% of converter MCI was classified in the high-CR group, whereas 63.6% of stable patients with a-MCI were in the low CR group (Fig. 3B). Direct comparisons between these two groups revealed

**FIGURE 2.** Tract-based spatial statistics results and scatter plots exhibiting negative correlation between cognitive reserve (CR) measures and WM integrity in normal aging (FWE corrected  $p < 0.05$ ). Interactions depict WM regions showing age-related fractional anisotropy (FA) decreases in which the correlation was more negative in HE than in patients. To represent single correlations,  $r$  values were directly converted from  $t$  values of the TBSS output. The  $t$  and  $r$  values correspond to the most statistically significant voxel for each cluster. The scatter plots have been represented using the mean FA value of the age-related area



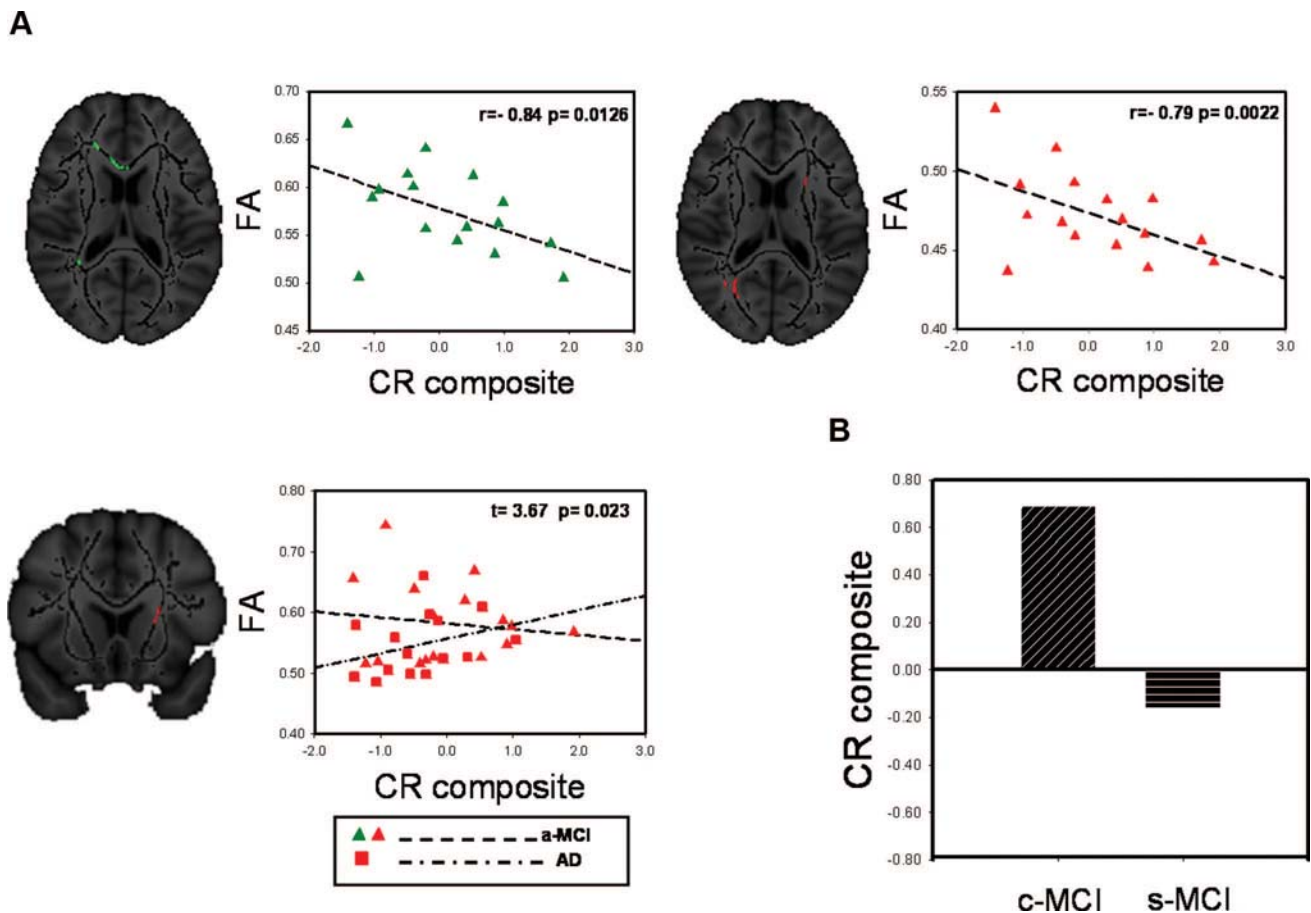
nonsignificant differences for the CR variable ( $U = 12$ ,  $p < 0.079$ ), age ( $U = 20.5$ ,  $p < 0.42$ ), MMSE ( $U = 23.5$ ,  $p < 0.65$ ), the memory composite score ( $U = 25.5$ ,  $p < 0.82$ ), and gender distribution (Fisher's exact test: 0.95,  $p < 0.58$ ). However, the increased proportion of converter cases among the high-CR group was significantly greater than the low-CR group (Fisher's exact test: 5.65,  $p < 0.03$ ,  $df: 1$ ).

### CONCLUSIONS

Our study provides the first evidence of associations between WM tract integrity and comprehensive

measures of CR (including educational-occupational, social, leisure, and physical ratings) in samples of healthy and pathologic elders. In HE, earlier studies of the structural brain correlates of CR proxies found inconsistent associations, demonstrating both positive and negative associations. For example, direct correlations between CR and whole-brain or regional GM or WM volumes have been reported.<sup>4,6,7,12</sup> Similarly, a recent investigation examining WM microstructure that higher education was associated with greater WM integrity in medial temporal lobe and fiber tracts in HE.<sup>11</sup> Similarly, Valenzuela et al.<sup>21</sup> reported the first evidence of a diminished rate of hippocampal atrophy in high-CR HE during a 3-year

**FIGURE 3.** [A] Tract-based spatial statistics results (FWE corrected  $p < 0.05$ ) showing axial and coronal views and scatter plots of areas exhibiting negative correlations between cognitive reserve (CR) measures and WM integrity in a-MCI, in regions showing age-related (green) and pathology-related (red) fractional anisotropy (FA) decreases. Interactions depict WM regions at which the correlation was more negative in a-MCI than in AD (see a more precise description of the anatomic WM areas in the “Results” section of the article). To represent single correlations,  $r$  values were directly converted from  $t$  values of the tract-based spatial statistics output. The  $t$  and  $r$  values correspond to the voxel of maximum significance for each cluster. The scatter plots have been represented using the mean FA value of the age-related and pathology-related areas. [B] Comparison of CR composite values between patients with a-MCI that progressed to AD during a 2-year follow-up (C-MCI) and patients who remained clinically stable (S-MCI, see main text for statistical analyses)



follow-up study, but another study including large samples of normal elders and patients with MCI and AD found a relation between higher levels of education and thinner cerebral cortices in all groups.<sup>22</sup> Finally, a study of 141 high-functioning older adults concluded that individuals with a high educational level were able to tolerate higher rates of WMHs without any negative impact on cognitive performance.<sup>9</sup> Hence, this findings corroborate these latter reports, showing inverse associations between CR and MRI-derived structural parameters, specifically the WM microstructure.

In terms of the brain reserve theory, the divergent results provided by previous correlational studies may in fact reveal nonmutually exclusive and complementary conceptualizations, namely, the “moderation or compensation” and the “neuroprotection” models. The latter is supported by evidence from experimental manipulations of cognitive and/or physical training not only in animals but also in humans,<sup>23</sup> suggesting that lifetime variables linked to high CR do not moderate the relationship between brain burden and cognitive functioning, but act directly on brain health.<sup>24</sup> Hence, earlier cross-sectional

and particularly longitudinal findings revealing positive associations between CR and morphometric MRI measurements could reflect *in vivo* evidence for a structurally neuroprotective effect, which may be mediated by several neurorestorative mechanisms at the molecular and cellular levels.<sup>21</sup> In contrast, the negative associations observed in some studies (such as ours) probably reflect that high-CR individuals can tolerate a higher degree of age-related brain burden in specific brain areas while at the same time maintaining optimal cognitive or functional abilities. Our observation (after accounting for mean FA values or whole-brain volumes) of positive associations between CR and memory performance in the healthy aged group but not in the a-MCI groups and AD groups suggests that other brain mechanisms (theoretically conceptualized under the “neuroprotection” model) must account for this association and thus explain the variance in neuropsychological performance among HE.

In this connection, it is interesting to note that in our previous study of a sample of healthy older individuals with similar characteristics, CR ratings were positively correlated with regional GM volumes in heteromodal prefrontal and parietal cortices. Moreover, individuals with higher CR exhibited facilitation as regards the implementation of “neural efficiency” mechanisms revealed by fMRI by decreased brain activity in the brain network engaged during a working memory task in the context of equivalent performance compared with subjects with lower CR (<sup>12</sup>). Therefore, although direct investigation within the same sample of individuals is required, it is conceivable that higher CR may protect against advanced biologic effects of brain ageing in specific WM areas in the context of preserved regional GM volumes, resulting in more effective functional networks. These two latter aspects probably account for the cognitive advantage observed among HE with high CR.

Regarding the anatomic localizations of the CR × FA associations, this report suggests the existence of regional specificity. First, HE presented more negative correlations than patients in only areas showing physiologic FA decreases, such as the callosal genu, a brain area affected by the ageing process in this study and in previous reports.<sup>25</sup> In the patients with a-MCI, higher rates of CR were related to reduced WM microstructure in more widespread WM

regions, although a larger network of tracts was involved for the associations located in pathology-related FA shrinkages. In general, late myelinating fibers that are early compromised in patients with AD<sup>26</sup> including corticocortical associative fasciculi and commissural fibers were implicated in this association. Hence, in terms of regional specificity, our results corroborate those of earlier functional and morphometric neuroimaging-based studies. For example, the longitudinal investigation of Valenzuela et al.<sup>21</sup> stressed that maintenance of brain structure related to greater lifespan history of complex mental activities was observed in the hippocampus, but not when considering whole-brain volume measures or whole-brain ratings of WMHs. Similarly, Pernecky et al.<sup>27</sup> demonstrated that the attenuation of the impact of brain damage on everyday functioning by education was only observed in BA 19, a region known to be primarily affected by neuropathology in their patients. Finally, as previously stated, our earlier fMRI findings revealed a correspondence for the neural implementation of CR in brain regions that typically undergo age-related changes in the HE and in areas that may subserve incipient Alzheimer type pathology in the case of cognitively impaired patients.

In this study, associations between CR and FA in patients with MCI were also observed in the age-related network. Although not invalidating previous conclusions referring to regional specificity, these findings may reflect a progressive (i.e., accumulative) reorganization of WM as a function of CR, as microstructural damage increases from normal ageing to early pathologic stages. As several DTI studies have established that WM is compromised in prodromal stages of dementia,<sup>28</sup> these results may show that patients with high CR a-MCI have more resistance to incipient neuropathologic processes in these areas. This interpretation is supported by the fact that all patients in this group were clinically comparable (all single domain amnesic patients with MCI), and results were adjusted for memory function. These observations also corroborate those of Teipel et al.<sup>11</sup> who reported regions of reduced FA with higher education among patients with AD, and in fact expand on these observations by using more comprehensive evaluations of CR in the prodromal stages of dementia. Interestingly, although our follow-up study provides information only on a small



number of individuals, its observation of higher rates of conversion to dementia among a-MCI cases with high CR supports the idea of a link between reduced WM integrity, which was maximal in patients with high CR and the risk of progression to AD. Conceptually, these observations recall the notion of a critical threshold of brain vulnerability, which would be able to prolong the preclinical stage in patients with high CR until a critical moment is reached.<sup>29</sup> When this threshold is passed, vulnerability to brain damage seems to be unavoidable and clinical, and functional deficits will eventually appear, accounting for the faster progression observed in patients with dementia in other follow-up investigations.<sup>30</sup> So, although it is clearly acknowledged that our results regarding the incident dementia cases among patients with MCI must be considered as preliminary and thus need to be interpreted with caution due to the small sample size, they may suggest that faster progression related to high CR may also be found when considering preclinical phases of dementia and may somehow be related to a higher capacity to tolerate damage in particular WM areas.

Several particularities and limitations of our study should be considered and resolved in future research. First, we did not observe associations between CR and FA for the AD group. Possible explanations are the lack of statistical power associated with reduced samples and the small amount of variation in the variables investigated in this group. Second, although our longitudinal findings suggest that the loss of WM integrity among patients with high

reserve MCI may modulate the risk of conversion to dementia, we did not consider the importance of this measure in comparison with other well-known risk variables such as the apolipoprotein E genotype or measures of hippocampal atrophy. Furthermore, the procedure used here to define CR is only one of the alternatives available in the literature. Our approach is similar to that used by Stern et al.,<sup>14</sup> including measures of premorbid IQ (the Vocabulary-WAIS in our case, because NART is not standardized in the Spanish population) and education. The inclusion of social and leisure activities is also equivalent to the “life activities” considered in other neuroimaging studies of CR from the same group.<sup>31</sup> This procedure differs from the one used by Valenzuela and Sachdev<sup>32</sup> in that their LEQ questionnaire also separates scores for distinct age phases (0–30 years, 30–65 years, and older than 65 years). Finally, other research groups mainly focus on educational level, having recently shown that it attenuates the impact of brain damage on everyday functioning in dementia with Lewy bodies.<sup>27</sup> In summary, we are aware that these results may have differed if these or other approaches had been used to estimate CR. To our knowledge, no investigation has analyzed the common and unique contributions of each of these approaches to associations between CR and brain parameters.

*This work was supported by a Spanish Ministerio de Educación y Ciencia research project award (SAF2007-66270 and SAF2009-07489) to Dr. David Bartrés-Faz and also by the Generalitat de Catalunya to the Neuropsychology Research Group (2009SGR941).*

## References

1. Stern Y: Cognitive reserve. *Neuropsychologia* 2009; 47:2015–2028
2. Sachdev PS, Valenzuela M: Brain and cognitive reserve. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17:175–178
3. Valenzuela MJ, Sachdev P: Brain reserve and dementia: a systematic review. *Psychol Med* 2006; 36:441–454
4. Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Junqué C, et al: Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2009; 30:1114–1124
5. Bosch B, Bartrés-Faz D, Rami L, et al: Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Cortex* 2009; 46:451–461
6. Colcombe SJ, Erickson KI, Raz N, et al: Aerobic fitness reduces brain tissue loss in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003; 58:176–180
7. Gordon BA, Rykhlevskaia EI, Brumback CR, et al: Neuroanatomical correlates of aging, cardiopulmonary fitness level, and education. *Psychophysiology* 2008; 45:825–838
8. Dufouil C, Alperovitch A, Tzourio C: Influence of education on the relationship between white matter lesions and cognition. *Neurology* 2003; 60:831–836
9. Nebes RD, Meltzer CC, Whyte EM, et al: The relation of white matter hyperintensities to cognitive performance in the normal old: education matters. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn* 2006; 13:326–340
10. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, et al: Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 2006; 31:1487–505
11. Teipel SJ, Meindl T, Wagner M, et al: White matter microstructure in relation to education in aging and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009; 17:571–583

12. Bartres-Faz D, Solé-Padullés C, Junqué C, et al: Interactions of cognitive reserve with regional brain anatomy and brain function during a working memory task in healthy elders. *Biol Psychol* 2009; 80:256–259
13. Rami L, Gomez-Anson B, Sanchez-Valle R, et al: Longitudinal study of amnesic patients at high risk for Alzheimer's disease: clinical, neuropsychological and magnetic resonance spectroscopy features. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007; 24:274–279
14. Stern Y, Habeck C, Moeller J, et al: Brain networks associated with cognitive reserve in healthy young and old adults. *Cereb Cortex* 2005; 15:394–402
15. Lezak MD, Howieson DB, Loring DW, et al: *Neuropsychological Assessment*. New York, Oxford University Press, 2004, pp 91–97
16. Staff R, Murray AD, Deary IJ, et al: What provides cerebral reserve. *Brain* 2004; 127:1191–1199
17. Scarmeas N: Lifestyle patterns and cognitive reserve, in *Cognitive Reserve. Theory and Applications*. Edited by Stern Y. Taylor & Francis, 2007, pp 187–206
18. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, et al: MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol* 1987; 149:351–356
19. Morris JC, Heyman A, Mohs RC, et al: The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1989; 39:1159–1165
20. Grober E, Buschke H: Genuine memory deficits in dementia. *Dev Neuropsychol* 1987; 3:13–36
21. Valenzuela MJ, Sachdev P, Wen W, et al: Lifespan mental activity predicts diminished rate of hippocampal atrophy. *PLoS One* 2008; 3:e2598
22. Querbes O, Aubry F, Pariente J, et al: Early diagnosis of Alzheimer's disease using cortical thickness: impact of cognitive reserve. *Brain* 2009; 132:2036–2047
23. Valenzuela M, Sachdev P: Can cognitive exercise prevent the onset of dementia? Systematic review of randomized clinical trials with longitudinal follow-up. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17:179–187
24. Christensen H, Batterham PJ, Mackinnon AJ, et al: Education, atrophy, and cognitive change in an epidemiological sample in early old age. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17:218–226
25. Medina DA, Gaviria M: Diffusion tensor imaging investigations in Alzheimer's disease the resurgence of white matter compromise in the cortical dysfunction of the aging brain. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008; 4:737–742
26. Stricker NH, Schweinsburg BC, Delano-Wood L, et al: Decreased white matter integrity in late-myelinating fiber pathways in Alzheimer's disease supports retrogenesis. *Neuroimage* 2009; 45: 10–16
27. Pernecky R, Häussermann P, Drzezga A, et al: Fluoro-deoxy-glucose positron emission tomography correlates of impaired activities of daily living in dementia with Lewy bodies: implications for cognitive reserve. *Am J Geriatr Psychiatry* 2009; 17:188–195
28. Gold G, Giannakopoulos P, Hermann FR, et al: Identification of Alzheimer and vascular lesion thresholds for mixed dementia. *Brain* 2007; 130:2830–2836
29. Satz P: Brain reserve capacity on symptom onset after brain injury: a formulation and review of evidence for threshold theory. *Neuropsychology* 1993; 7:273–295
30. Scarmeas N, Albert SM, Manly JJ, et al: Education and rates of cognitive decline in incident Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77:308–316
31. Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, et al: Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003; 60:359–365
32. Valenzuela MJ, Sachdev P: Assessment of complex mental activity across the lifespan: development of the Lifetime of Experiences Questionnaire (LEQ). *Psychol Med* 2007; 37:1015–1025

### **ESTUDIO III: Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease**

#### **OBJETIVO**

- Estudiar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de tipo pasivo, preservada en los pacientes.

#### **RESULTADOS**

En este estudio se plantea investigar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de comprensión del lenguaje de tipo pasivo, preservada en los pacientes con DCL-a y EA en fase inicial.

Si bien, tanto los pacientes como los controles mostraron una ejecución similar en la prueba de comprensión del lenguaje durante la exploración neuropsicológica, durante la ejecución de la tarea dentro de la RM, en los pacientes se observó una correlación positiva entre las medidas de RC y la respuesta BOLD en áreas directamente implicadas en el procesamiento del lenguaje, así como una mayor desactivación en regiones de la DMN. Tanto los DCL-a como los pacientes con EA, mostraron una correlación negativa entre RC y actividad cerebral en áreas de desactivación inducidas por la tarea.

Estas relaciones se invirtieron en sujetos sanos. Para estos sujetos, una alta RC se relacionó con una reducción de la actividad en áreas implicadas en el procesamiento de comprensión lingüística. Igualmente, en sujetos sanos, una alta RC se relaciona con menos desactivaciones del DMN.

Cabe señalar, sin embargo, que no se pudo demostrar que estos cambios funcionales se relacionaran con atrofia cerebral.



ELSEVIER

available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cortex](http://www.elsevier.com/locate/cortex)

Special issue: Research report

## Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease

Beatriz Bosch<sup>a</sup>, David Bartrés-Faz<sup>b,c,\*</sup>, Lorena Rami<sup>a,b</sup>, Eider M. Arenaza-Urquijo<sup>b</sup>, Davinia Fernández-Espejo<sup>b,c</sup>, Carme Junqué<sup>b,c</sup>, Cristina Solé-Padullés<sup>a</sup>, Raquel Sánchez-Valle<sup>a,b</sup>, Núria Bargallo<sup>c,d</sup>, Carles Falcón<sup>c,e</sup> and José Luis Molinuevo<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders Unit, Neurology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain

<sup>b</sup>Department de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Universitat de Barcelona, Catalonia, Spain

<sup>c</sup>Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Catalonia, Spain

<sup>d</sup>Radiology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain

<sup>e</sup>CIBER-BBN, Barcelona, Catalonia, Spain

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 10 November 2008

Reviewed 27 March 2009

Revised 20 April 2009

Accepted 6 May 2009

Published online ■

## Keywords:

Cognitive reserve

Functional magnetic resonance imaging (fMRI)

Default-mode network

Mild cognitive impairment

Alzheimer's disease

## ABSTRACT

**Introduction:** Cognitive reserve (CR) reflects the capacity of the brain to endure neuropathology in order to minimize clinical manifestations. Previous studies showed that CR modulates the patterns of brain activity in both healthy and clinical populations. In the present study we sought to determine whether reorganizations of functional brain resources linked to CR could already be observed in amnesic mild cognitive impairment (a-MCI) and mild Alzheimer's disease (AD) patients when performing a task corresponding to an unaffected cognitive domain. We further investigated if activity in regions showing task-induced deactivations, usually identified as pertaining to the default-mode network (DMN), was also influenced by CR.

**Methods:** Fifteen healthy elders, 15 a-MCI and 15 AD patients underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) during a speech comprehension task. Differences in the regression of slopes between CR proxies and blood-oxygen-level dependent (BOLD) signals across clinical groups were investigated for activation and deactivation areas. Correlations between significant fMRI results and a language comprehension test were also computed.

**Results:** Among a-MCI and AD we observed positive correlations between CR measures and BOLD signals in task-induced activation areas directly processing speech, as well as greater deactivations in regions of the DMN. These relationships were inverted in healthy elders. We found no evidence that these results were mediated by gray matter volumes. Increased activity in left frontal areas and decreased activity in the anterior cingulate were related to better language comprehension in clinical evaluations.

**Conclusions:** The present findings provide evidence that the neurofunctional reorganizations related to CR among a-MCI and AD patients can be seen even when considering

\* Corresponding author. Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain.

E-mail address: [dbartres@ub.edu](mailto:dbartres@ub.edu) (D. Bartrés-Faz).

0010-9452/\$ – see front matter © 2009 Elsevier Srl. All rights reserved.

doi:10.1016/j.cortex.2009.05.006

a preserved cognitive domain, being independent of gray matter atrophy. Areas showing both task-induced activations and deactivations are modulated by CR in an opposite manner when considering healthy elders versus patients. Brain reorganizations facilitated by CR may reflect behavioral compensatory mechanisms.

© 2009 Elsevier Srl. All rights reserved.

## 1. Introduction

In aging and dementia, the concept of cerebral or cognitive reserve (CR) relates to the capacity of the brain to cope with neuropathology so as to minimize clinical manifestations (Stern, 2002). Evidence from prospective epidemiological studies indicates that higher indexes of CR variables such as education, occupation or leisure activities protect against the appearance of clinical symptoms of dementia (Scarmeas, 2007). Some experimental data further suggest that high CR is related to more preserved brain structure (Solé-Padullés et al., 2009; Bartrés-Faz et al., 2009) and to less brain atrophy at follow-up examinations (Valenzuela et al., 2008). In contrast, higher CR ratings in patients with a clinical diagnosis of Alzheimer's disease (AD) are associated with faster progression of the disease (Wilson et al., 2000; Stern et al., 1999; Scarmeas et al., 2006; Helzner et al., 2007), increased neuropathology burden (Snowdon, 2003), lower rates of regional brain glucose metabolism (Pernecky et al., 2006) and increased brain atrophy (Kidron et al., 1997; Solé-Padullés et al., 2009). These latter findings are interpreted as reflecting more advanced brain pathology but similar severity of clinical impairments in AD cases with greater CR, thus evidencing the protective effect of CR in clinical manifestations of the disease.

CR status is generally inferred from clinical evaluations that seek to capture the lifetime involvement of patients or healthy subjects in intellectual, social, physical and leisure activities (Valenzuela and Sachdev, 2005). Functional neuroimaging studies show that CR modulates brain activity in the face of cognitive demands. In this regard, previous reports have demonstrated that functional reorganizations associated with CR measures can already be detected in healthy populations. In particular, CR has been associated with the ability to recruit brain networks in a more effective way (Stern, 2002) in both young and elder subjects (Scarmeas et al., 2003, 2004; Habeck et al., 2003; Stern et al., 2003, 2005). Furthermore, Waiter et al. (2008) found that elders presenting sustained general cognitive function across their lifespan had similar patterns of brain activation/deactivation and functional connectivity to young subjects, whereas this was not the case for elders showing cognitive decline. As regards clinical samples, we recently reported that CR variables modulated differentially the pattern of brain activity in mild AD cases and healthy controls during a visual episodic memory task. Specifically, we observed positive correlations between CR ratings and functional magnetic resonance imaging (fMRI) signal in AD patients in the superior temporal gyrus (Brodmann area – BA 22) and superior parietal lobule (BA 7), whereas negative correlations appeared in healthy elders in these same areas. These findings most likely reflect compensatory mechanisms in response either to direct consequences of neuropathological abnormalities in

particular regions, or to secondary changes resulting from damage in the earliest affected structures (i.e., entorhinal cortex; Solé-Padullés et al., 2009).

In summary, there is evidence of CR-related functional reorganizations in normal aging that can also be observed in mild AD. Importantly, it should be noted that our and similar previous findings in clinical populations (i.e., Scarmeas et al., 2004) were obtained when challenging patients with cognitive tasks that tap into clinically-affected cognitive domains, such as memory encoding. Nonetheless, from the abovementioned findings reported in the healthy elder literature it seems feasible to hypothesize that functional reorganizations linked to CR mechanisms in patients might also be observed earlier in the course of the cognitive progression of the disease, when considering spared cognitive domains. Thus, the first objective of the present study was to investigate the functional brain correlates of CR measures in brain activity using fMRI during the performance of a passive language comprehension task, one for which the skill required was judged to be clinically unaffected in our sample of patients. Specifically, and on the basis of our previous findings (Solé-Padullés et al., 2009), we hypothesized that the same directionality of results observed formerly during cognitive testing of impaired functions would be detected when investigating an unaffected cognitive domain (i.e., CR–blood-oxygen-level dependent – CR–BOLD negative correlations in healthy elders and CR–BOLD positive correlations in patients). However, in contrast to our previous approach the present strategy has two potential advantages: first, it may help to detect earlier 'cognitive markers' evidencing the impact of brain disease on functional brain reorganizations; and second, it facilitates fMRI to be used in AD patients, thus avoiding the common difficulties encountered when considering impaired cognitive functions such as 'floor effects' or, in general, the difficulty of comparing patients with healthy controls via cognitive fMRI studies.

A growing body of evidence indicates that brain areas included in the 'default-mode network (DMN)' show functional abnormalities in the early stages of AD (for review, see Buckner et al., 2008). The DMN includes functionally connected regions, mainly prefrontal dorsal and ventral medial regions, the posteromedial cortex (the posterior cingulate, precuneus and retrosplenial cortex), inferior parietal areas and, less robustly, the hippocampal formation. Previous fMRI studies searching for task-induced deactivations showed that DMN areas are more active during passive task conditions (e.g., passive fixation, rest) than during goal-directed conditions; alternatively, they showed deactivations during targeted or experimental conditions (e.g., making semantic decisions of visually presented stimuli) (Buckner et al., 2008). With some particularities, the basic DMN anatomy is highly consistent across different cognitive tasks and methodological

approaches (i.e., resting-state studies or task-induced deactivations) (McKiernan et al., 2003; Rombouts et al., 2005; Harrison et al., 2008). In the case of AD the main functional deficit revealed by fMRI in these areas is a decrease of deactivation or lack of deactivations, particularly in the posteromedial region (Lustig et al., 2003; Greicius et al., 2004; Rombouts et al., 2005). The patterns of dysfunctional brain deactivations in the DMN are already observed in mild cognitive impairment (MCI) patients (Rombouts et al., 2005; Celone et al., 2006; Petrella et al., 2007a) and may have clinical implications. In this regard, the most clinically-affected MCI patients exhibit a greater inability to deactivate these brain areas during memory tasks (Celone et al., 2006), and this deficit is particularly present in those cases that will have developed dementia at follow-up evaluations (Petrella et al., 2007b).

An interesting particularity of the DMN is that its activity shows negative correlations ('anticorrelations') with brain areas involved in cognitive processing (McKiernan et al., 2003; Fox et al., 2005; Celone et al., 2006; Persson et al., 2007), as well as the fact that greater deactivations are observed as the demands of cognitive processing increase (McKiernan et al., 2003; Persson et al., 2007). To our knowledge, no previous investigation has sought to elucidate whether DMN activity is modulated by CR variables. However, and as reported above, previous findings from our group showed that AD patients with higher CR loads presented the highest BOLD signal in areas involved in the processing of a memory encoding task (Solé-Padullés et al., 2009). Consequently, it could be hypothesized that these patients should also evidence concomitantly greater deactivations in this network. On the other hand, since the correlations were reversed in the healthy elder group, as high CR elders used more efficient networks manifested by reduced task-induced brain activations (Solé-Padullés et al., 2009; Bartrés-Faz et al., 2009), reduced deactivations should also be expected in their DMN. Based on these predictions the second aim of the present study was to test whether CR variables modulate brain activity in the default network in an independent sample of healthy elders, amnesic mild cognitive impairment (a-MCI) and mild AD cases.

## 2. Method

### 2.1. Participants

Forty-five individuals older than 65 and who provided written informed consent (by their relatives in AD cases) were enrolled in the study, which was approved by the local ethics committee. The whole sample comprised 15 healthy elders, 15 patients with the amnesic variant of MCI (single-domain memory impaired) and 15 AD cases. All patients were prospectively and consecutively recruited from a unit for AD and other cognitive disorders, part of the Neurology Service of the Hospital Clinic in Barcelona. None of the patients or healthy elders had previously participated in studies by our group investigating brain correlates of CR variables (Solé-Padullés et al., 2009; Bartrés-Faz et al., 2009). All subjects underwent clinical and neuropsychological evaluations. The diagnostic procedures employed to classify individuals into the abovementioned groups have been described elsewhere (Rami et al., 2007). Briefly, healthy individuals did not meet

criteria for dementia and presented no cognitive complaints. Further, they did not exhibit cognitive performance below  $-1.5$  standard deviation (SD) on an episodic memory test or on any other test forming part of neuropsychological examinations of language, praxis, gnosis and abstract reasoning. Patients with a-MCI reported complaints of memory function and scores below  $-1.5$  SD on an episodic memory test, while their remaining cognitive functions were within the normal limits for age- and education-adjusted values. None of the a-MCI had impaired activities of daily living according to scores on the Functional Activities Questionnaire (FAQ, Pfeffer et al., 1982). Probable AD diagnosis was established by an interdisciplinary clinical committee formed by two neurologists and one neuropsychologist. National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) criteria were applied, taking into account clinical and objective functional and neuropsychological results. All AD patients included were in the mild stages of the disease (Global Deterioration Scale = 4). Atypical AD variants with non-significant episodic memory impairment were excluded from the study.

### 2.2. Proxies of CR

Three main proxies reflecting those commonly used in the CR literature and in our previous studies (Solé-Padullés et al., 2009; Bartrés-Faz et al., 2009) were defined. The first was the Vocabulary subtest of the Wechsler Adult Intelligence Scale 3rd version (WAIS-III), administered as a measure reflecting pre-morbid IQ (Lezak et al., 2004). A second CR variable was defined as "education-occupation" and included quantifications coded as in a previous report (Staff et al., 2004): 0 = no formal education, 1 = primary school, 2 = secondary education and 3 = superior or university education; and as regards occupation: 0 = non-qualified, 1 = qualified manual, 2 = qualified non-manual or technician, 3 = professional (university degree required), 4 = manager or director (university degree required). The final value was obtained by adding the education and occupation values (range 0–7). A third proxy was taken into account with the aim of considering other relevant variables related to CR (Scarmeas, 2007). This part included recording of lifetime occupations in leisure and cognitively-stimulating activities (reading, writing, music playing, painting), as well as physical (sports and daily walking) and social life (participation in social activities or groups, associations, voluntary work). These measures were gathered into a customized questionnaire with scores ranging from 0 to 19 (the higher the score, the greater the CR). The questionnaire was administered directly to each subject; in the case of patients this was done in the presence of their relatives to ensure the validity of the data provided. Finally, to summarize the information relating the three CR variables, a composite CR score was obtained for each subject by using factor analyses (principal component methods) and following the procedure described by Stern et al. (2005). The single factor extracted (composite CR) accounted for 62.3% of the common variance of these three measures.

### 2.3. fMRI acquisition and task procedure

All 45 subjects underwent structural and functional MRI examinations on a 3 T MRI scanner (Magnetom Trio Tim,

Siemens Medical Systems, Germany) at the Centre for Image Diagnosis of the Hospital Clínic (CDIC). The MRI protocol included an fMRI dataset of 240 volumes of 36 axis slices each (using a gradient-echo echo-planar imaging – EPI sequence) and a high-resolution 3D structural dataset (T1-weighted Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo – MP-RAGE image) for coregistering with the fMRI images. The acquisition parameters for the fMRI were: repetition time (TR) = 2000 msec; echo time (TE) = 29 msec; percentage phase field of view = 100; matrix size = 128 × 128; slice thickness = 3 mm; interslice gap = 3.75 mm; flip angle = 90°. The parameters for the structural images were: TR = 2300 msec, TE = 2.98 msec, inversion time (TI) = 900; FOV = 100 × 100 cm; matrix size = 256 × 256; flip angle = 9°; slice thickness = 1.

We used an fMRI task previously employed by our group in studies of younger samples (Fernández-Espejo et al., 2008) and adapted from the one proposed by Dehaene-Lambertz et al. (2002). This task consists of the passive listening to eight spoken narratives (20 sec each) played forwards, backwards and alternated with periods of silence of the same length in a three-condition block-design whose total length was 480 sec. Narratives included everyday events with neutral emotional content and without personally meaningful content. They were read by a female Spanish speaker with vivid intonation and recorded using the freeware software Audacity 1.3.4 (<http://audacity.sourceforge.net>). Reversed narratives (narratives played backwards) matched the originals in terms of physical complexity and acoustic characteristics such as amplitude and power of spectrum, but they violated several segmental and suprasegmental phonological properties of human speech (Dehaene-Lambertz et al., 2002; Binder et al., 2000). These characteristics make reversed speech an ideal control condition for the non-linguistic aspects of speech. The stimuli were presented using the Presentation software (Presentation v.10.1 Neurobehavioural Systems) running on a Windows XP PC and an MRI-compatible high-quality digital sound system incorporating noise-attenuated headphones (VisuaStim Digital, Resonance Technology, Inc.). While inside the fMRI scanner, healthy elders and patients were instructed just to listen to the narrative presentations and simply try to understand them (which was only possible for forward narratives); they were told to rest during the silent periods. Although we did not record responses inside the scanner all patients had demonstrated preserved language comprehension on the Auditory Comprehension subtest of the Boston Diagnostic Aphasia Examination (BDAE, Goodglass and Kaplan, 1972) and showed that they could understand the meaning of the sentences in pilot trials before fMRI acquisitions.

#### 2.4. Data analysis

The Statistical Package for Social Sciences (SPSS v.14.0) was used to investigate group differences in demographic, clinical and CR measures, employing adequate tests (analysis of variance – ANOVA,  $\chi^2$ ) when appropriate. Pearson coefficient correlations were used to test for relationships between significant regions of brain activity (fMRI value at the most significant voxel) and performance on the BDAE Auditory Comprehension subtest. Differences in the regression slopes

between CR and fMRI signals between clinical groups were calculated using t-Student statistics. All analyses performed in SPSS were considered significant for values of  $p \leq .05$ .

To analyze fMRI data we used SPM5 running in Matlab 6.5. Original magnetic resonance images registered were organized into three-dimensional files (240 volumes per subject) by means of MRICro software (University of Nottingham, UK) and saved in a format compatible with SPM5. Following alignment along the anterior commissure/posterior commissure line and realignment of the scans to remove the effects of head movement, images were transferred into a standardized coordinate system. Normalized images were smoothed with an isotropic Gaussian kernel (full width half maximum) of 8 mm. The analysis was based on the general linear model. Three regressors (one corresponding to each condition) were modeled per subject and each scan was coded to belong to one of these conditions. After modeling, individual t-contrasts were performed to reveal linguistic processing or task-induced activations. This was achieved by creating the following contrast: 'language played forwards > language played backwards'. A second individual contrast was created to reveal task-induced deactivations (contrast: 'silent periods > language forward'), revealing decreased MRI signal during language processing (or relatively greater MR signal during the low-level rest baseline). Recent studies in elder populations including AD patients evidence that this approach is useful to identify brain areas of the DMN (e.g., Lustig et al., 2003; Celone et al., 2006; Person et al., 2008). Second level (group) analyses were performed to search for brain areas showing group differences in the slopes of the relationship between CR variables and regions of task-increased and task-decreased brain activations. To this end we used the 'full factorial' design implemented in SPM5. For the analyses involving the 'silent periods > language forward' contrast, group analyses were restricted to brain areas constituting the DMN, as summarized by Buckner et al. (2008). These include the ventral medial prefrontal cortex (BA 24, 31, 10), the posterior cingulate/retrosplenial cortex (BA 29, 30, 23/31), the inferior parietal lobe (BA 39, 40), the lateral temporal cortex (BA 21), the dorsal medial prefrontal cortex (BA, 24, 32, 10, 9) and the hippocampal formation. All fMRI results were interpreted only if they attained both a voxelwise threshold of  $p < .001$  (uncorrected) and a  $p < .05$  (corrected) threshold on the extent of clusters. Only significant clusters containing more than 20 contiguous voxels were considered.

### 3. Results

Demographic data, MMSE scores and values for the CR composite score and its components are all given in Table 1. As expected, mild AD cases had reduced global cognitive performance when compared to controls and a-MCI patients. The differences between the two patient groups also reached statistical significance. Based on these differences MMSE scores were included as a covariate in subsequent analyses testing for group differences between CR and fMRI results. Age, gender and CR ratings were equally distributed across groups. However, since we could not rule out the possibility that these variables may differentially influence the

**Table 1 – Demographic global cognitive and CR measures for the three groups investigated.**

	CTR (n = 15)	a-MCI (n = 15)	Mild AD (n = 15)	F/ $\chi^2$	Sign.
Age	72.20 (5.75)	74.63 (6.85)	75.27 (5.66)	1.04	n.s.
Gender (M/F)	5/10	6/9	7/8	.587	n.s.
MMSE	27.67 (1.49)	25.50 (2.03)	21.40 (3.06)	29.08	<.05*
Composite CR	.27 (1.17)	.10 (1.01)	-.38 (.68)	1.86	n.s.
Vocabulary WAIS-III	37.87 (11.48)	34.69 (8.86)	34 (9.04)	.66	n.s.
Education–occupation	3.53 (2.13)	3.81 (2.85)	2.60 (1.40)	1.24	n.s.
CR questionnaire	8.27 (3.88)	7.56 (3.95)	5.53 (2.50)	2.45	n.s.

Values for age, MMSE and composite CR scores are given in means (SDs). \*Scheffe post hoc: CTR > MCI; CTR > AD; MCI > AD. CTR = controls.

relationships between CR and brain activity within the selected groups, they were also included as covariates in further analyses.

The pattern of brain activity for the whole group of subjects obtained from the individual ‘activation contrasts’ (forward vs backward narratives) revealed significantly increased brain activity in a large cluster [centered at BA 46, (x: -54, 21, 24) t: 6.49, cluster: 515 voxels] that extended laterally in the left hemisphere, including areas of the left inferior frontal and precentral gyri (BA 44/6) and temporal regions of the middle and superior temporal gyri (BA 21/22). These results showing peaks of activity in frontal and temporal areas are in accordance with previous results obtained by our group using the same task in healthy young individuals (Fernández-Espejo et al., 2008).

In the present study we focused our analyses on identifying brain regions showing differences in the direction of slopes between CR and fMRI signal in healthy elders and patients. In this regard, a clear dissociation emerged for the activation and deactivation contrasts. First, both a-MCI and AD cases presented positive correlations between CR composite scores and BOLD for the contrast reflecting task-induced activations. These correlations were negative in the control group, with the differences of the regression slopes being statistically significant in the left superior/middle frontal gyrus, the right cerebellum and a region surrounding the left inferior frontal and precentral gyri for a-MCI patients versus controls. AD patients presented more positive correlations in the left inferior frontal gyrus as compared to both controls and a-MCI patients.

Conversely, both clinical groups showed increased deactivations in the DMN that were related to higher CR ratings, as compared to healthy elders where higher CR was associated with increased activity in DMN regions. The regions showing significant differences in the regression slopes between groups were the right anterior cingulate and supramarginal areas for the comparison between a-MCI and controls and the posteromedial region (precuneus/posterior cingulate) for both groups of patients as compared to the reference group. As in our recent study (Bartres-Faz et al., 2009), we further examined whether these results were influenced by the underlying brain atrophy, as would be predicted by CR theory. To this end we reanalyzed the data after adjusting in a voxel-based manner by gray matter volumes derived from processing 3D-MRI acquisitions and using the Biological Parametric Mapping (BPM). This toolbox implemented in SPM allows a direct

comparison to be made between different MR modalities (Casanova et al., 2007). Unexpectedly, the results of these new analyses revealed that GM had little or no influence on the results described above. The precise areas showing significant differences in the regression slopes between CR and BOLD activity across groups in the final model are detailed in Table 2 and represented graphically in the figures (see Figs. 1 and 2 and Table 2).

Finally, we investigated whether the brain areas of activation and deactivation showing significant functional reorganizations on the basis of CR were related to language comprehension performance in controls and patients. To this end we correlated BOLD activity in each identified area with performance on the BDAE Auditory Comprehension task. These analyses were performed separately for each group and also after combining the two patient groups. The only significant results were a positive correlation between fMRI signal in the left inferior frontal/precentral gyri (BA 44/6) and cognitive performance for the a-MCI group (BA 46) ( $r = .52$ ,  $p < .037$ ), as well as a negative correlation for the whole group of patients with fMRI signal in the right anterior cingulate cortex (BA 24/32;  $r = -.37$ ,  $p < .045$ ). These latter findings indicate that increased activity in the activation network and more marked deactivations in a region included in the DMN were related to higher language comprehension ratings.

#### 4. Discussion

In the present study we observed a double dissociation in the relationship between CR and fMRI activity across clinical groups and task-induced activations and deactivations. Among healthy elders, highest CR was associated with reduced activity in brain areas processing speech comprehension, whereas increased activity was observed in regions of the DMN. The opposite effect was observed in both groups of patients, whose brain activity patterns were increased in areas directly processing language, showing more marked deactivations in the DMN for higher CR cases. These findings reveal that cognitive or brain reserve is associated with early functional brain reorganization in patients even when considering a clinically-unaffected cognitive domain.

When investigating how CR variables are differentially related to cerebral activity during task-induced activations across clinical groups we observed negative correlations for the healthy elder sample, as compared to patients. The most



**Table 2 – Brain regions showing differences in the direction of the slopes for the correlations between CR variables and fMRI BOLD signal across clinical groups.**

Main contrast	t-Value	MNI coordinates [x, y, z]	Region (BA)	Number of voxels
<i>Activation</i>				
a-MCI more positive than CTR	5.10	[24, -6, 60]	R middle/superior frontal gyrus (BA 6)	179
	4.83	[24, -60, -21]	R cerebellum	105
	4.21	[-30, -9, 33]	L inferior frontal gyrus/gyrus precentralis (BA 44/46)	48
AD more positive than CTR	5.43	[-42, 12, 12]	L inferior frontal gyrus (BA 46)	214
	4.65	[-6, 33, -6]	L anterior cingulate (BA 24)	58
AD more positive than a-MCI	4.49	[-45, 45, 12]	L inferior frontal gyrus (BA 46)	74
	4.38	[-27, 36, 0]	L insula	181
	3.75	[-6, 33, -3]	L anterior cingulate (BA 32)	64
<i>Deactivation</i>				
a-MCI more negative than CTR	5.79	[12, 12, 51]	R anterior cingulate (BA 24/32)	210
	4.75	[60, -33, 24]	R supramarginal (BA 40)	30
	4.25	[0, -45, 39]	L posterior cingulate/precuneus (BA 31)	37
AD more negative than CTR	6.31	[-12, -39, 33]	L posterior cingulate/precuneus (BA 31)	71

All results displayed are adjusted for age, gender, MMSE and regional gray matter volumes. t-Value: statistical value for the most significant voxel within each cluster; R = right; L: left. For interpretation of clusters, MNI coordinates were corrected to Talairach using the WFU Pickatlas software (version 2.3). a-MCI: amnesic mild cognitive impairment.

direct interpretation of this finding is that healthy elders with higher CR exhibit increased neural efficiency (Stern, 2007), since diminished recruitment of linguistic areas was required in these cases. These results fit well with our recent observations in independent samples and with more complex cognitive tasks (Solé-Padullés et al., 2009; Bartrés-Faz et al., 2009), and they evidence that neurofunctional implementation of CR is already at work in low-demanding cognitive processes.

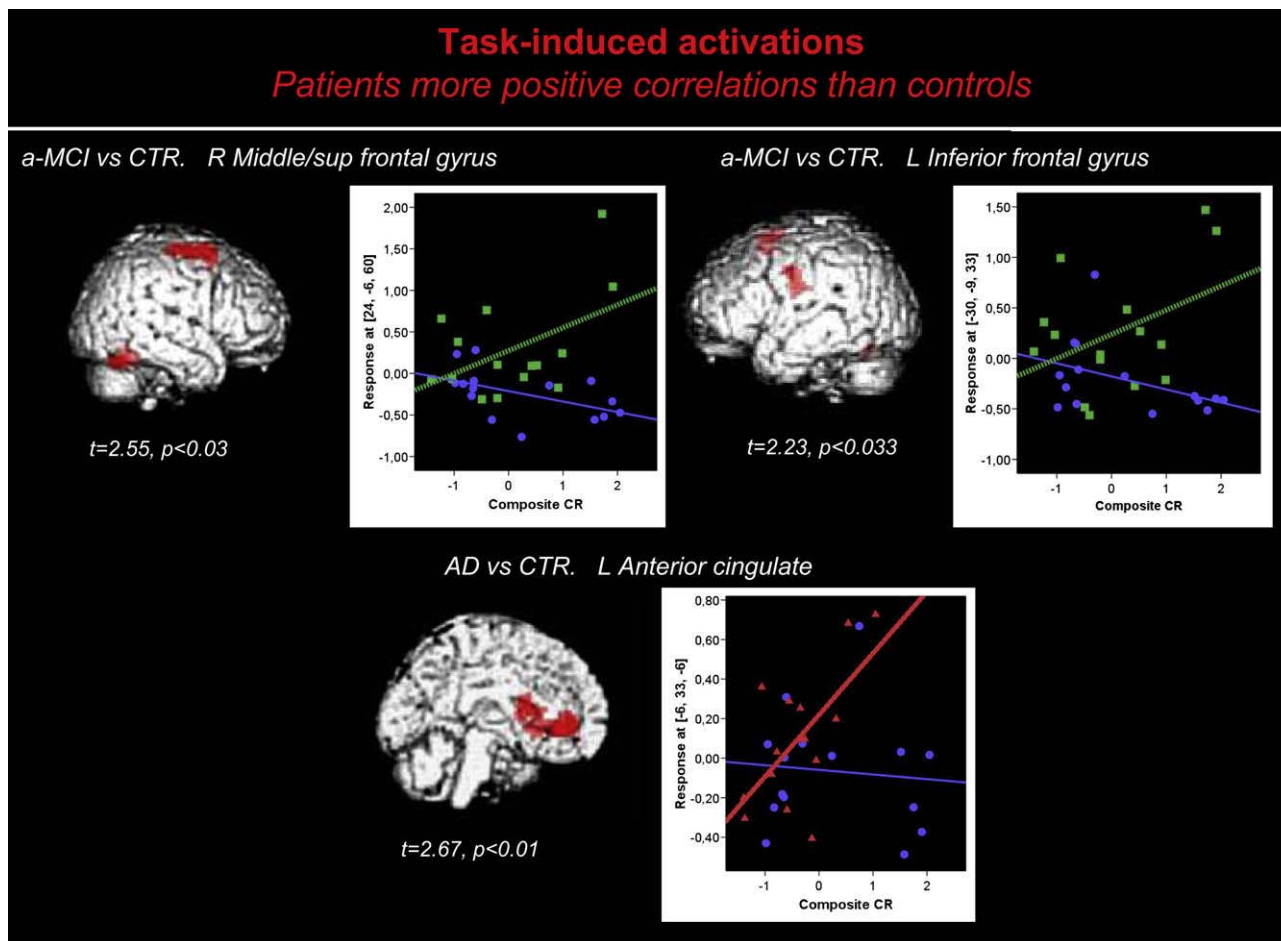
In the case of a-MCI and mild AD patients, several cortical regions (and the cerebellum in a-MCI patients) reflected a positive covariance with CR when compared to healthy elders. As stated above, the CR hypothesis predicts that for a given level of neuropathology among AD cases, those patients with higher CR will present mild clinical manifestations; or alternatively, considering patients with a similar degree of clinical impairment, those with greater CR should present a more advanced stage of the disease (Snowdon, 2003). In this regard, it should be noted that, in clinical terms, our AD and a-MCI patients constituted homogeneous groups. With these conceptions in mind it may be speculated that our high CR patients use increased recruitment of brain regions to compensate cognitively for increased brain damage. Among a-MCI the direction of the correlations between CR and brain activity was equivalent to that found in AD and in clear contrast to that observed in healthy elders. Thus, these data indicate that neurofunctional reorganizations related to CR among a-MCI subjects share more characteristics with AD patients than with healthy subjects.

Areas of increased right hemisphere brain activity, including the right cerebellum, emerged only for a-MCI as compared to controls, whereas AD cases had stronger increased correlations that were more focused in the left hemisphere. These findings may reflect an increased possibility of using expanded functional compensatory resources among a-MCI subjects as compared to patients with a clinical diagnosis of dementia. Recent evidence has linked most of the

regions identified here with aspects related to language or speech comprehension, including the right middle frontal gyrus (Mashal et al., 2008), the anterior cingulate cortex (Tyler et al., 2005) and the right cerebellum (Uchiyama et al., 2008). However, it should be noted that in subsequent analyses correlating fMRI signal with language comprehension, only increased activity in the left inferior frontal (BA 44)/precentral gyri (BA 6) (a region that emerged in the whole group pattern of brain activity for the 'forward vs backward narratives' contrast) in the a-MCI group had a significant behavioral impact. These data further reinforce the idea that non-demented, memory-impaired patients can use compensation mechanisms linked to CR in a more effective way than can AD cases when considering task-induced activity areas.

In the present report we provide the first evidence that CR status differentially modulates the magnitude of deactivation in the DMN in healthy elders and patients suffering from MCI and AD. For all groups the relationships between CR and brain activity were the opposite for areas of the DMN as compared to those obtained in the main linguistic regions. It is interesting to note that previous findings evidenced inverse relationships between activity in regions of the default network and brain areas routinely exhibiting task-induced activations during cognitive demands (McKiernan et al., 2003; Fox et al., 2005; Celone et al., 2006; Persson et al., 2007). Our results for both healthy elders and patients complement previous observations and suggest that the interaction between this dichotomy is modulated by CR variables.

When compared to patients, healthy elders exhibited reduced deactivations in areas of the DMN. Greicius et al. (2003, 2004) demonstrated that in a complex cognitive process such as working memory, the reallocation of neural resources from default-mode brain regions to lateral prefrontal areas could be clearly evidenced. In contrast, a passive sensory task was insufficient to disrupt the DMN in healthy subjects. Based on these findings, the fact that our high CR elders exhibited less



**Fig. 1 – Examples of regions showing differences in the regression slopes of task-induced activations between CR and fMRI across healthy elders and clinical groups. Control subjects are represented using blue circles, a-MCI using green squares and AD patients with red triangles. t-Student statistics and corresponding significance values reflect the magnitude of differences in regression slopes between clinical groups. For a detailed anatomical localization of all significant areas, please see Table 2).**

suspension of the DMN may reflect that for this group with more efficient functional resources, our linguistic task was processed as being more automatic or effortless. In summary, the present findings demonstrate that for healthy elders, the increased neural efficiency associated with CR, as revealed by fMRI, seems to include both reduced recruitment of task-induced activation areas and reduced suppression of the DMN.

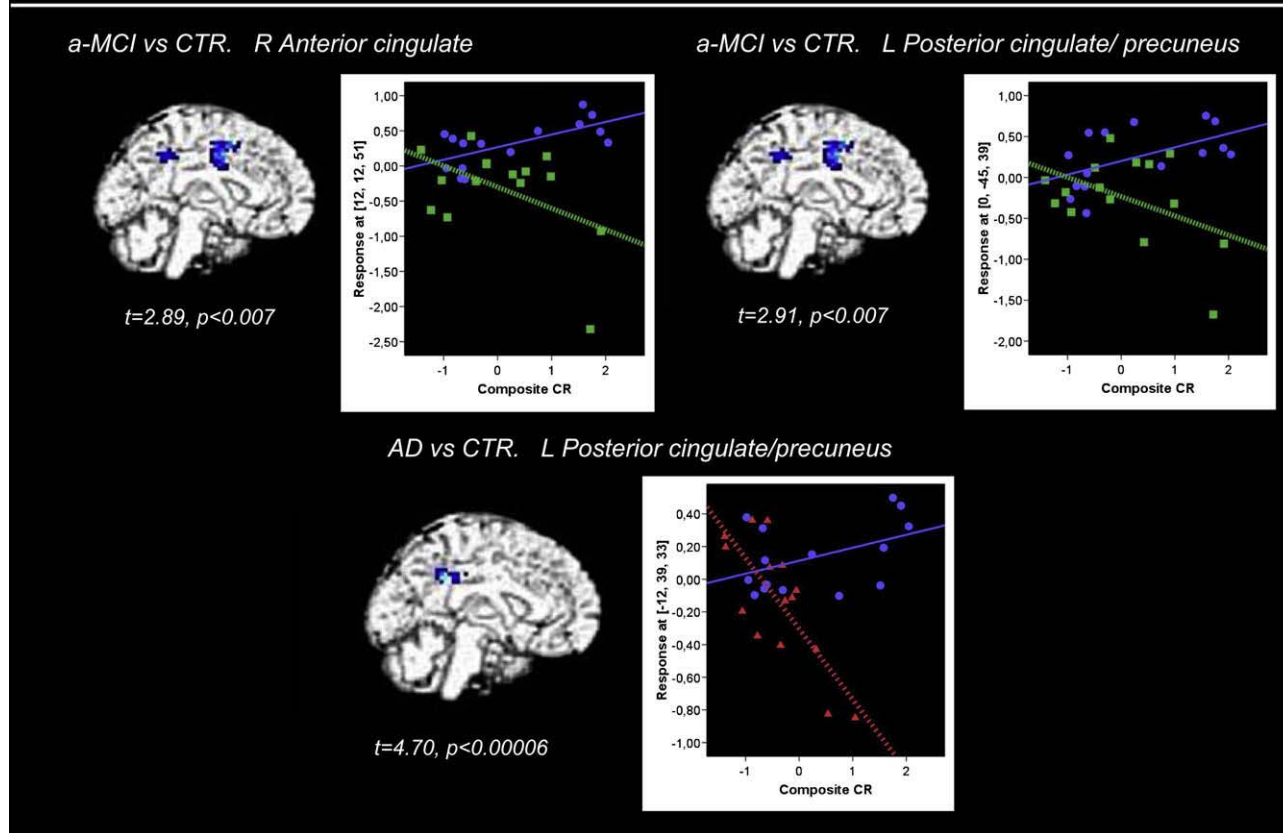
As discussed above, two lines of evidence suggest that: 1) diverting activity from processes occurring at rest is especially evident during highly cognitively-demanding conditions (McKiernan et al., 2003); and 2) according to the CR hypothesis, greater brain pathology for high CR patients should be expected given a similar degree of clinical manifestations (Snowdon, 2003). Based on these premises, it may be hypothesized that greater reallocation of processing resources from the DMN to brain areas directly processing the linguistic task in our patients could be reflecting increased demands of functional compensatory mechanisms in the context of a more advanced stage of neuropathology. However, it should be noted that in the present study we failed to confirm this assumption when considering reduced GM volumes as a measure of brain damage, thus suggesting that other morphological correlates

should be considered in further studies to account for this interpretation (see discussion below).

Although our findings suggest that functional brain reorganizations related to CR can be observed in mild stages of cognitive decline, it is possible that these differences are pre-existing. Using functional neuroimaging techniques both Stern et al. (2005) and Springer et al. (2005) reported alternative usage of neural networks as a function of CR – and in the face of increasing cognitive demands – in healthy elders as compared to young subjects. These results were interpreted as providing evidence of neural compensation for the inability to recruit the healthy (young) brain's response to increased task difficulty. More recently, Waiter et al. (2008) used a task of information processing speed called *inspection time* to compare the BOLD activation and connectivity in elders with successful and unsuccessful cognitive aging on the basis of non-verbal reasoning ability evaluations. The authors observed that successful elders showed similar regions of brain activation, deactivation and connectivity to those of young subjects (previously studied by the group). In contrast, the elders exhibiting cognitive decline deviated clearly from these patterns. These findings are of relevance because they

## Task-induced deactivations

*Patients more negative correlations than controls*



**Fig. 2** – Examples of regions showing differences in the regression slopes of task-induced deactivations between CR and fMRI across healthy elders and clinical groups. Control subjects are represented using blue circles, a-MCI using green squares and AD patients with red triangles. t-Student statistics and corresponding significance values reflect the magnitude of differences in regression slopes between clinical groups. For a detailed anatomical localization of all significant areas, please see [Table 2](#).

indicate that using a simple psychophysical task it is possible to evidence functional reorganizations within the aged population without clinically-relevant cognitive impairment. The present results indicate that these reorganizations are associated with our CR evaluation and can also be evidenced when considering clinical populations and unaffected cognitive domains. However, it should be noted that the study by [Waiter et al. \(2008\)](#) is methodologically unique since they employed a longitudinal design, where the two groups of elders were defined as ‘sustainers’ (successful aging) or ‘decliners’ (unsuccessful) in comparison with their own IQ scores at age 11. In contrast, our report is a cross-sectional study that cannot provide definitive evidence as regards when brain reorganization took place in our patients. Furthermore, our patients were recruited from an AD unit and, therefore, while they are representative of amnesic and AD patients referred to a memory clinic, they may not represent primary care patients as a whole. These aspects are acknowledged as limitations of the present study.

Previous findings in healthy subjects ([Daselaar et al., 2004](#); [Rombouts et al., 2005](#); [Persson et al., 2007](#); [Andrews-Hanna](#)

[et al., 2007](#)), as well as in MCI and AD patients ([Celone et al., 2006](#)), have evidenced that greater deactivations in areas of the DMN were related to increased cognitive performance. In this context, a further limitation of the present report is that we did not collect behavioral measures inside the scanner, thus precluding the direct investigation of relationships between fMRI signal and performance on the particular cognitive task used. In a complementary manner, we observed positive correlations between the degree of deactivation in the right anterior cingulate region and improved comprehension ratings in the whole group of patients. Thus, while replication with direct analyses is required, increased capacity to suppress regions of the DMN, which can be more easily accommodated in high CR patients, may have a behavioral impact. This finding may explain part of the compensatory functional mechanisms that allow patients, including mild AD cases, to minimize cognitive manifestations.

It is worthy of mention that compared to controls, patients with higher CR indexes exhibited larger deactivations in the posteromedial region (precuneus and posterior cingulate gyrus). Previous metabolic studies and morphological MRI

data indicate that this brain area is among the first to be affected in the early stages of AD (Minoshima et al., 1997; Scahill et al., 2002). Furthermore, lower regional glucose metabolism and anatomical abnormalities within this region increase the risk of conversion to dementia among a-MCI patients (Chételat et al., 2003; Anchisi et al., 2005; Bozzali et al., 2006). In the same vein, it was reported that reduced capacity to deactivate the posteromedial region during cognitive processing was characteristic of a-MCI patients who developed dementia at follow-up (Petrella et al., 2007b). Our study evidences that deactivation of this critical area is facilitated by higher CR loads in both MCI and early AD. While the interpretation of this observation as regards the clinical progression of patients is beyond the scope of the present cross-sectional study, its relevance should probably be investigated in further longitudinal reports.

The present study found no evidence that gray matter atrophy, adjusted in a voxel-based manner, mediates the relationship between CR and brain activations and deactivations. These findings are unexpected and counterintuitive as regards the CR hypothesis, which predicts that functional compensations in AD are a result of increased brain damage. In our previous study (Solé-Padullés et al., 2009) we observed that AD patients with higher CR exhibited increased brain activity during an episodic memory task, together with more advanced whole brain atrophy rates. However, when we used a multiple regression analysis it was evidenced that fMRI changes are more closely related to CR proxies than to brain atrophy, thus providing further support for the active models of CR (Stern, 2002). The present findings, obtained using a more refined voxel-by-voxel coregistration between fMRI and GM values, reinforce the idea that functional reorganizations linked to CR are implemented beyond structural brain differences, even at the early stages of cognitive impairment and AD. It should be clearly noted, however, that one plausible explanation for the lack of evidence produced by our study is limited statistical power due to a small sample size. Alternatively, it is possible that the low-demand cognitive task employed here and/or the fact that it tapped into an unaffected cognitive domain precluded the identification of function/structure associations. Furthermore, gray matter atrophy may not be the most sensitive structural brain correlate associated with the observed functional reorganizations. Recent findings using both resting-state fMRI (Andrews-Hanna et al., 2007) and task-induced activations (Greicius et al., 2009) demonstrated that disruptions of the DMN are associated with white matter integrity, as revealed by diffusion tensor imaging. Further, accounting measures of gray matter volume (Damoiseaux et al., 2008) or typical AD pathology such as Pittsburgh Compound B (PIB) – positron emission tomography (PET) (Andrews-Hanna et al., 2007) did not modify the differences between young and older subjects in resting-state networks. Taken together, previous and the present findings indicate that further studies are required to investigate the precise role of white matter track integrity as a more sensitive morphological correlate of CR and its relationships with functional changes in healthy elders and patients.

In conclusion, the main results of the present study can be summarized as follows. First, CR variables modulate inversely the activation and deactivation of neural networks, both in

healthy elders and patients with a-MCI and mild AD. Among healthy elders, high CR is related to more efficient usage of brain networks involved in the cognitive process tested and to fewer deactivations of the DMN. These findings confirm previous studies reporting competitive activations or inverse correlations between task-induced activations and task-induced deactivation networks. In the case of patients, greater CR was related to increased BOLD signal in linguistic processing areas, with concomitantly more deactivations in the DMN. Despite being indirect, these associations between changes in brain activity related to CR and language comprehension performance could be reported among a-MCI cases, thus indicating probable increased reorganization of functional compensatory resources in patients with high CR. It should be noted, however, that we failed to show that this functional reorganization is related to increased brain atrophy (measured by GM volumes), as would be predicted by the CR hypothesis. Finally, the present fMRI findings were obtained when studying an unaffected cognitive domain in our patients. Thus, they indicate that CR effects, as modulators of functional brain reorganizations, can be observed early in the course of the cognitive dysfunction in AD and even in a-MCI.

## Acknowledgements

This work was funded by a Spanish Ministerio de Educación y Ciencia research project award (SAF2007-66270) to Dr. David Bartrés-Faz and fundings from the Generalitat de Catalunya to the Neuropsychology Research Group (2005SGR00855) and from a Pfizer-eisai research grant.

## REFERENCES

- Anchisi D, Borroni B, Franceschi M, Kerrouche N, Kalbe E, Beuthien-Beumann B, et al. Heterogeneity of brain glucose metabolism in mild cognitive impairment and clinical progression to Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 62: 1728–1733, 2005.
- Andrews-Hanna JR, Snyder AZ, Vincent JL, Lustig C, Head D, Raichle MC, et al. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*, 2007; doi:10.1016/j.neuron.2007.10.038.
- Bartrés-Faz D, Solé-Padullés C, Junqué C, Rami L, Bosch B, Bargalló N, et al. Interactions of cognitive reserve with regional brain anatomy and brain function during a working memory task in healthy elders. *Biological Psychology*, 80: 256–259, 2009.
- Binder JR, Frost JA, Hammeke TA, Bellgowan PS, Springer JA, Kaufman JN, et al. Human temporal lobe activation by speech and nonspeech sounds. *Cerebral Cortex*, 10: 512–528, 2000.
- Bozzali M, Filippi M, Magnani G, Cercignani M, Franceschi M, Schiatti E, et al. The contribution of voxel-based morphometry in staging patients with mild cognitive impairment. *Neurology*, 67: 453–460, 2006.
- Buckner R, Andrews-Hanna JR, and Schacter DL. The brain's default network. *Anatomy, function, and relevant to disease. Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124: 1–3, 2008.
- Casanova R, Srikanth R, Baer A, Laurienti PJ, Burdette JH, Hayasaka S, et al. Biological parametric mapping: a statistical toolbox for multimodality brain image analysis. *Neuroimage*, 34: 137–143, 2007.

- Celone KA, Calhoun VD, Dickerson BC, Atri A, Chua EF, Miller SL, et al. Alterations in memory networks in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: and independent component analysis. *The Journal of Neuroscience*, 26: 10222–10231, 2006.
- Chételat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Eustache F, and Baron JC. Mild cognitive impairment. Can FDG-PET predict who is to rapidly convert to Alzheimer's disease? *Neurology*, 60: 1374–1377, 2003.
- Damoiseaux JS, Beckmann CF, Sanz Arigita EJ, Barkhof F, Scheltens Ph, Stam CJ, et al. Reduced resting-state brain activity in the "default network" in normal aging. *Cerebral Cortex*, 18: 1856–1864, 2008.
- Daselaar SM, Prince SE, and Cabeza R. When less means more: deactivations during encoding that predict subsequent memory. *Neuroimage*, 23: 921–927, 2004.
- Dehaene-Lambertz G, Dehaene S, and Hertz-Pannier L. Functional neuroimaging of speech perception in infants. *Science*, 298: 2013–2015, 2002.
- Fernández-Espejo D, Junqué C, Vendrell P, Bernabeu M, Roig T, Bargalló N, et al. Cerebral response to speech in vegetative and minimally conscious states after traumatic brain injury. *Brain Injury*, 22: 882–890, 2008.
- Fox MC, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, and Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 102: 9673–9678, 2005.
- Goodglass H and Kaplan E. *The Assessment of Aphasia and Related Disorders*. Philadelphia: Lea Febiger, 1972.
- Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, and Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 101: 4637–4642, 2004.
- Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, and Menon V. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 100: 253–258, 2003.
- Greicius MD, Supekar K, Menon V, and Dougherty RF. Resting state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cerebral Cortex*, 19: 72–78, 2009.
- Habeck C, Hilton HJ, Zarahn E, Flynn J, Moeller J, and Stern Y. Relation of cognitive reserve and task performance to expression of regional covariance networks in an event-related fMRI study of nonverbal memory. *Neuroimage*, 20: 1723–1733, 2003.
- Harrison BJ, Pujol J, López-Sola M, Hernández-Ribas R, Deus J, Ortiz H, et al. Consistency and functional specialization in the default mode brain network. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105: 9781–9786, 2008.
- Helzner EP, Scarmeas N, Cosentino S, Portet F, and Stern Y. Leisure activity and cognitive decline in incident Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 64: 1749–1754, 2007.
- Kidron D, Black SE, Stanchev P, Buck B, Szalai JP, Parker J, et al. Quantitative MR volumetry in Alzheimer's disease. Topographic markers and the effects of sex and education. *Neurology*, 49: 1504–1512, 1997.
- Lezak D, Howieson DB, Loring DW, Hannay HJ, and Fischer JS. *Neuropsychological Assessment*. New York: Oxford University Press, 2004: 91–97.
- Lustig C, Snyder AZ, Bhakta M, O'Brien KC, McAvoy M, Raichle ME, et al. Functional deactivations: change with age and dementia of the Alzheimer type. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 100: 14504–14509, 2003.
- Mashal N, Faust M, Hender T, and Jung-Beeman M. Hemispheric differences in processing the literal interpretation of idioms: converging evidence from behavioral and fMRI studies. *Cortex*, 44: 848–860, 2008.
- McKiernan KA, Kaufman JN, Kucera-Thompson, and Binder JR. A parametric manipulation of factors affecting task-induced deactivation in functional neuroimaging. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 15: 394–408, 2003.
- Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, and Kuhl DE. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 42: 85–94, 1997.
- Pernecky R, Drzezga A, Diehl-Schmid J, Schmid G, Wohlschlagler A, Kars S, et al. Schooling mediates brain reserve in Alzheimer's disease: findings of fluoro-deoxy-glucose-positron emission tomography. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 77: 1060–1063, 2006.
- Person J, Lin J, Larsson A, Ingvar M, Sleeper K, Van Broeckhoven C, et al. Altered deactivation in individuals with genetic risk for Alzheimer's disease. *Neuropsychology*, 46: 1679–1687, 2008.
- Persson J, Lustig C, Nelson JK, and Reuter-Lorenz P. Age differences in deactivation: a link to cognitive control? *Journal of Cognitive Neuroscience*, 19: 1021–1032, 2007.
- Petrella JR, Wang L, Krishnan S, Slavin MJ, Prince SE, Tran TT, et al. Cortical deactivation in mild cognitive impairment: high-field-strength functional MR imaging. *Neuroradiology*, 245: 224–234, 2007a.
- Petrella JR, Prince SE, Wang L, Hellegers C, and Doraiswamy PM. Prognostic value of posteromedial cortex deactivation in mild cognitive impairment. *PLoS ONE*, 2007b; doi:10.1371/journal.pone.0001104.
- Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Chance JM, and Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. *Journal of Gerontology*, 37: 323–329, 1982.
- Rami L, Gomez-Anson B, Sanchez-Valle R, Bosch B, Monte GC, Llado A, et al. Longitudinal study of amnesic patients at high risk for Alzheimer's disease: clinical, neuropsychological and magnetic resonance spectroscopy features. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 24: 274–279, 2007.
- Rombouts SAR, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ, and Scheltens P. Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Human Brain Mapping*, 26: 231–239, 2005.
- Scahill RI, Schott JM, Stevens JM, Rossor MN, and Fox NC. Mapping the evolution of regional atrophy in Alzheimer's disease: unbiased analysis of fluid-registered serial MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99: 4135–4137, 2002.
- Scarmeas N, Albert SM, Manly JJ, and Stern Y. Education and rates of cognitive decline in incident Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 77: 308–316, 2006.
- Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, Hilton J, Flynn J, Van Heertum RL, et al. Cognitive reserve modulates functional brain responses during memory tasks: a PET study in healthy young and elderly subjects. *Neuroimage*, 19: 1215–1227, 2003.
- Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, Honing LS, Park A, Hilton J, et al. Cognitive reserve-mediated modulation of positron emission tomographic activations during memory tasks in Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 61: 73–78, 2004.
- Scarmeas N. Lifestyle patterns and cognitive reserve. In Stern Y (Ed), *Cognitive Reserve. Theory and Applications*. New York: Taylor & Francis, 2007: 187–206.
- Snowdon D. Healthy aging and dementia: findings from the Nun Study. *Annals of Internal Medicine*, 139: 450–454, 2003.
- Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Junqué C, Vendrell P, Rami L, Clemente IC, et al. Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 30: 1114–1124, 2009.
- Springer MV, McIntosh AR, Winocur G, and Grady CL. The relation between brain activity during memory tasks and years of education in young and older adults. *Neuropsychology*, 19: 181–192, 2005.

- Staff R, Murray AD, Deary IJ, and Whalley LJ. What provides cerebral reserve. *Brain*, 127: 1191–1199, 2004.
- Stern Y, Zarahn E, Hilton HJ, Flynn J, DeLaPaz R, and Rakitin B. Exploring the neural basis of cognitive reserve. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 25: 691–701, 2003.
- Stern Y. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8: 448–460, 2002.
- Stern Y, Albert S, Tang MX, and Tsai WY. Rate of memory decline in AD is related to education and occupation: cognitive reserve? *Neurology*, 53: 1942–1947, 1999.
- Stern Y, Habeck C, Moeller J, Scarmeas N, Anderson KE, Hilton HJ, et al. Brain networks associated with cognitive reserve in healthy young and old adults. *Cerebral Cortex*, 15: 394–402, 2005.
- Tyler LK, Stamatakis EA, Post B, Randall B, and Marslen-Wilson W. Temporal and frontal systems in speech comprehension: an fMRI study of past tense processing. *Neuropsychologia*, 43: 1963–1974, 2005.
- Uchiyama Y, Toyoda H, Honda M, Yoshida H, Kochiyama T, Ebe K, et al. Functional segregation of the inferior frontal gyrus for syntactic processes: a functional magnetic-resonance imaging study. *Neuroscience Research*, 61: 309–318, 2008.
- Valenzuela MJ and Sachdev P. Brain reserve and dementia: a systematic review. *Psychological Medicine*, 35: 1–14, 2005.
- Valenzuela MJ, Sachdev P, Wen W, Chen X, and Brodaty H. Lifespan mental activity predicts diminished rate of hippocampal atrophy. *PLoS ONE*, 2008; doi:10.1371/journal.pone.0002598.
- Waiter GD, Fox HC, Murray AD, Starr JM, Staff RT, Bourne VJ, et al. Is retaining the youthful functional anatomy underlying speed of information processing a signature of successful cognitive ageing? An event-related fMRI study of inspection time performance. *Neuroimage*, 41: 581–595, 2008.
- Wilson RS, Bennett DA, Gilley DW, Beckett LA, Barnes LL, and Evans DA. Premorbid reading activity and patterns of cognitive decline in Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 57: 1718–1723, 2000.

**ESTUDIO IV: Greater default-mode network abnormalities compared to high order visual processing systems in amnesic MCI. An integrated multi-modal MRI study.**

**Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuo-perceptive network among a-MCI.**

**OBJETIVOS**

- Investigar mediante RMf si existe disfunción de activación o desactivación en la red cerebral que subyace al procesamiento visual complejo en pacientes con DCL-amnésico.
- Caracterizar, a través de una aproximación multimodal de RMf, observando la atrofia cortical y la integridad de SB, la relación entre los cambios funcionales y estructurales en el DCL-a.
- Investigar el papel de la RC sobre los cambios observados en una red funcional clínicamente preservada

**RESULTADOS**

Se realizó un estudio multimodal (mediante resonancia magnética estructural, funcional y de difusión) en el que se caracterizó las redes funcionales y estructurales implicadas en una tarea de procesamiento visual complejo, en pacientes con DCL-a y CTR. Para realizar este análisis integral se examinó la conectividad funcional, la volumetría de la SG así como la tractografía probabilística de la SB. Además, se estudió la implementación de la RC en estas redes aisladas para esta tarea clínicamente preservada en los dos grupos.

El análisis de los componentes de las imágenes de RMf identificó dos redes anatomofuncionales en el componente principal relacionadas con la tarea (una red que constituye el patrón de activación y una red relacionada con el patrón de desactivación de regiones cerebrales). La activación (ATRP) correspondía principalmente a áreas parietales, temporales y occipitales y en menor medida a regiones frontales.

La tarea también estaba relacionada con la activación de ciertas regiones cerebrales, durante el 'patrón de activación por reposo', que coincidían con regiones implicadas en la red conocida como *default network* (Buckner, y col., 2008).

En las comparaciones grupales para la red de activación los pacientes con DCL-a mostraron una mayor activación en áreas ventrales-occipitales inferiores implicadas en la tarea visual en comparación con los controles. Sin embargo, no se observaron diferencias de SB y SG dentro de la red de ATRP para este grupo. Por otro lado, los pacientes no sólo mostraban anormalidades funcionales en algunas regiones corticales del sistema visual sino que también mostraron una desactivación menor de áreas posteromediales que los controles en áreas implicadas en el 'default mode network'. Además, a partir del análisis de la información aportada por la RMf pudimos observar atrofia cortical en el córtex cingulado posterior y precuneus como sustrato anatómico de los déficit de desactivación, junto con una excesiva desactivación del lóbulo parietal inferior y compromiso de la SB en la corteza cingulada (calloso), una vía identificada como una de las principales en la red estructural de la DMN en estudios anteriores. Sin embargo, aunque los pacientes presentaban mayor activación de redes funcionales implicadas en la tarea y reducida desactivación de la red que se supone que debería permanecer suspendida durante la ejecución de dicha tarea, los pacientes con DCL-a mostraron un desempeño de la tarea parecido al de los controles.

Se encontró relación entre estructura, función y rendimiento únicamente en las medidas relacionadas con el 'patrón de activación por reposo' (DTRP) en controles sanos.

Posteriormente estudiamos el impacto de las variables de RC en el DCL-a sobre la red funcional clínicamente preservada. En sujetos sanos no se encontró relación significativa entre las variables de RC y las medidas anatomofuncionales relacionadas con la tarea. Sin embargo, los pacientes con DCL-a con niveles de RC más altos presentaban mayor activación de la red funcional. Curiosamente, los mismos pacientes presentaban mayor atrofia de SG en las áreas del DMN y mostraron correlaciones negativas entre las variables de RC e integridad de las fibras de sustancia blanca relacionadas con la tarea.



# Greater Default-Mode Network Abnormalities Compared to High Order Visual Processing Systems in Amnestic Mild Cognitive Impairment: An Integrated Multi-Modal MRI Study

Roser Sala-Llonch<sup>a,b</sup>, Beatriz Bosch<sup>a</sup>, Eider M. Arenaza-Urquijo<sup>b</sup>, Lorena Rami<sup>a</sup>, Núria Bargalló<sup>c,d</sup>, Carme Junqué<sup>b,c</sup>, José-Luis Molinuevo<sup>a,c</sup> and David Bartrés-Faz<sup>b,c,\*</sup>

<sup>a</sup>*Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders Unit, Neurology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain*

<sup>b</sup>*Department de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Universitat de Barcelona, Catalonia, Spain*

<sup>c</sup>*Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Catalonia, Spain*

<sup>d</sup>*Radiology Service, Hospital Clínic de Barcelona, Catalonia, Spain*

Accepted 2 July 2010

**Abstract.** We conducted an integrated multi-modal magnetic resonance imaging (MRI) study based on functional MRI (fMRI) data during a complex but cognitively preserved visual task in 15 amnestic mild cognitive impairment (a-MCI) patients and 15 Healthy Elders (HE). Independent Component Analysis of fMRI data identified a functional network containing an Activation Task Related Pattern (ATRP), including regions of the dorsal and ventral visual stream, and a Deactivation Task Related Pattern network (DTRP), with high spatial correspondence with the default-mode network (DMN). Gray matter (GM) volumes of the underlying ATRP and DTRP cortical areas were measured, and probabilistic tractography (based on diffusion MRI) identified fiber pathways within each functional network. For the ATRP network, a-MCI patients exhibited increased fMRI responses in inferior-ventral visual areas, possibly reflecting compensatory activations for more compromised dorsal regions. However, no significant GM or white matter group differences were observed within the ATRP network. For the DTRP/DMN, a-MCI showed deactivation deficits and reduced GM volumes in the posterior cingulate/precuneus, excessive deactivations in the inferior parietal lobe, and less fiber tract integrity in the cingulate bundles. Task performance correlated with DTRP-functionality in the HE group. Besides allowing the identification of functional reorganizations in the cortical network directly processing the task-stimuli, these findings highlight the importance of conducting integrated multi-modal MRI studies in MCI based on spared cognitive domains in order to identify functional abnormalities in critical areas of the DMN and their precise anatomical substrates. These latter findings may reflect early neuroimaging biomarkers in dementia.

**Keywords:** Alzheimer's disease, compensation, default-mode network, diffusion MRI, fMRI, mild cognitive impairment, structural magnetic resonance, tractography, visual pathways

## INTRODUCTION

Mild cognitive impairment (MCI) defines a transitional state between normal aging and dementia and is considered a prodromal stage of Alzheimer's disease (AD) [1], especially when it presents in its amnestic

\*Correspondence to: David Bartrés-Faz, PhD, Departament de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Casanova 143, 08036 Barcelona, Spain. Tel.: +34 93 4037264; Fax: +34 93 4035294; E-mail: dbartres@ub.edu.

subtype [2,3]. MCI thus represents an ideal model for broadening our understanding of the early pathophysiology of incipient AD. In recent years, both structural and functional neuroimaging techniques have been extensively applied in order to characterize MCI cross-sectionally, and have identified a set of imaging biomarkers that have predictive value as regards future conversion or clinical stability in these patients [4,5].

Among neuroimaging techniques, functional magnetic resonance imaging (fMRI) is particularly well suited to investigate whether early functional brain reorganizations can be detected prior to overt neuropsychological or structural brain abnormalities [6], and thus reveal subtle cerebral functional adaptations in preclinical dementia. In the MCI context, however, most fMRI studies have considered learning and/or memory paradigms, a cognitive area which by definition is affected in most MCI patients [7–13]. As regards other cognitive domains, a few independent fMRI reports have revealed abnormal patterns of brain activity in attentional and executive domains [14,15] or in language processing [16]. In one recent study [17] the authors integrated the study of language, memory, attention, and empathy in a cohort of a-MCI patients. One promising line of research has centered on the investigation of complex visual processing in MCI patients, given the well-characterized anatomy of the dorsal and ventral visual pathways and the fact that visuospatial and visuosperceptive functions are early affected in AD. These investigations have revealed preclinical functional reorganizations in high order visual areas supporting both visuospatial [18,19] and visuosperceptive [19–22] processing among MCI and early AD. fMRI study of complex visual functions in these patients provides further clinically relevant evidence, as it has been demonstrated that patients who will convert to AD present increased brain responses with increasing task demands in areas related to visuospatial processing, probably reflecting reduced neuronal efficiency due to accumulating AD pathology [18].

In dementia, the optimal use of cerebral networks in terms of cognitive capability strongly depends on the integrity and precise spatio-temporal tuning of their functional and structural components [23]. However, in the study of complex visual functions in MCI, only Teipel and colleagues [21] have investigated system-specific associations between the functional connectivity of neural systems and their underlying morphological features. In their report, those authors observed more positive associations for MCI patients than for controls between gray matter (GM) volumes in regions

of the ventral visual system and fusiform gyrus activity during a face-matching task, as well as negative correlations between this region and anatomical areas outside the ventral visual pathway. That study supported the notion that the functional segregation within the visual system is based on the distribution of cortical GM volumes in MCI patients. However, the investigation restricted the analysis of brain activity to a particular area based on an a priori hypothesis and did not consider structural connectivity as a further measure in the model.

The aim of the present study was to provide the first comprehensive characterization of a functional and structural cerebral network underlying complex visual processing in MCI patients. The primary objective was to determine whether network-related alterations in MCI appear even before clinical impairment in this cognitive domain can be detected. For this purpose, we used three MRI modalities (T1-structural, fMRI, and Diffusion MRI) to perform an integrated analysis including functional connectivity, GM volumetry, and probabilistic tractography. First, the study of task-activated regions allows the characterization of these visual processing related networks. Furthermore, the study of task-deactivations allowed us to investigate the brain's default-mode network (DMN, [24–27]), defined as a set of brain regions showing high levels of functional connectivity with core areas in the anterior/frontal and posterior midline structures as well as in the parietal regions. The DMN is significantly more activated during rest or passive sensory tasks than in cognitively demanding or goal-directed tasks and is known to be compromised in neurodegenerative disorders, including AD, particularly in the posterior cingulate cortex (PCC), an area primarily affected by AD-associated alterations such as hypometabolism or elevated atrophy rate [27]. More recent studies of deactivations in the context of memory tasks [28] or resting state fMRI conditions [29,30] have also noted dysfunction in this system in MCI, but the relationship between functional alterations and their precise underlying structural brain correlates is still largely unknown in this condition.

Briefly, the main steps of the data analyses presented in this paper are as follows. First, we used Independent Component Analysis (ICA) to explore the functional networks involved in the task and functional differences between groups. Importantly, within the main component, regions exhibiting both task-related activations and deactivations were identified, defining two different networks. The spatial maps of the functional networks obtained were then thresholded and several

ROIs defining isolated but functionally connected regions were extracted from them. Furthermore, these ROIs were used to evaluate structural characteristics of the networks such as GM volumes and network-related white matter pathways between pairs of ROI. We investigated differences in these measures as well as relationships between structure and functionality.

## METHODS

### *Subjects*

Thirty right-handed subjects aged over 65 were prospectively recruited from the AD and other cognitive disorders unit at the Neurology Service of the Hospital Clinic in Barcelona. The sample comprised 15 healthy elders (HE) and 15 MCI patients. Patients with a clinical diagnosis of AD were not included because the study focused on identifying a brain network related to a preserved cognitive domain, which would have been more difficult to attain with demented patients. MCI patients were prospectively selected only if they presented the amnesic form of the disorder (a-MCI; single memory domain affected), defined by the fact that their remaining cognitive functions and activities of daily living were within the normal range. We used the Pfeffer Functional Activities Questionnaire (FAQ) [31] to assess patients' functional activities. The FAQ comprises 10 items, which evaluate a variety of Activities of Daily Living (ADL) and complex cognitive/social functions. We considered that ADL were impaired if the FAQ score was  $\geq 3$ . All subjects scored  $< 3$  in the FAQ. Healthy individuals did not meet criteria for dementia and presented no cognitive complaints or scores below  $-1.5$  SD on any neuropsychological test. Patients with a-MCI reported complaints of memory function and scores below  $-1.5$  SD on an episodic memory test (long term retrieval test from the FCRST: Free and cued selective reminding test). A comprehensive neuropsychological battery was administered to all subjects, including assessments of memory, frontal lobe 'executive' functions, language, gnosis, and praxis tests [16]. Visuo-perceptive-visuospatial functions were assessed by means of the Incomplete Letters and the Number location tests of the Visual Object and Space Perception Battery (VOSP, [32]). Additionally, the Perception Digital Test (PDT) was also administered to evaluate high order visual functions [33]. We verified that all a-MCI patients performed within normal limits in this

test, which was adapted for use within the fMRI context (see below).

Finally, all the a-MCI subjects were clinically re-evaluated two years after this first scanning session and it was observed that some of them (5 of 15) had converted to AD.

### *MRI acquisition*

Subjects were examined on a 3T MRI scanner (Magnetom Trio Tim, Siemens Medical Systems, Germany). For the fMRI protocol, 225 T2\*-weighted volumes were acquired during the task performance (TR = 2000 ms, TE = 29 ms, 36 slices per volume, slice thickness = 3 mm, distance factor = 25%, FOV = 240 mm, matrix size =  $128 \times 128$ ). A high resolution 3D structural dataset (T1-weighted MP-RAGE, TR = 2300 ms, TE = 2.98 ms, 240 slices, FOV = 256 mm; matrix size =  $256 \times 256$ ; Slice thickness = 1 mm) was also acquired, followed by a Diffusion Weighted Imaging (DWI) protocol which consisted of an echoplanar imaging (EPI) sequence (30 directions, TR = 5600 ms, TE = 89 ms, 44 slices, slice thickness = 2 mm, distance factor = 30%, FOV = 250 mm, matrix size =  $122 \times 122$ ). The DWI protocol also provided a T2-weighted volume (B0) which was used to exclude participants with evidence of cerebrovascular disease based on the evaluation of white matter (WM) hyperintensities. Specifically, a board-certified neuroradiologist (NB) rated all images using the Fazekas scale [34]. Because of this, some WM abnormalities were observed in our sample, probably age-related, as all the participants rated 1–2 on this scale. No differences were observed between the two clinical groups [mean (SD) Fazekas scores were 1.13 (0.74) and 1.06 (0.59) for the HE and a-MCI groups respectively;  $t = 0.27$ ,  $p = 0.78$ ].

### *fMRI task*

We used a block design paradigm consisting of three alternating conditions. During the experimental condition (10 scans, duration: 20 s) subjects were presented with four blurred images within each of the four quadrants of the screen. Three of the images were rotated 90,  $-90$ , and 180 degrees respectively, while the remaining one was randomly positioned in the correct orientation. After correct identification of the content of the images (i.e., visually decoding the picture to identify that it represented, for example, a landscape, an object or people) the subject was asked to answer whether the image that was correctly orientated was on

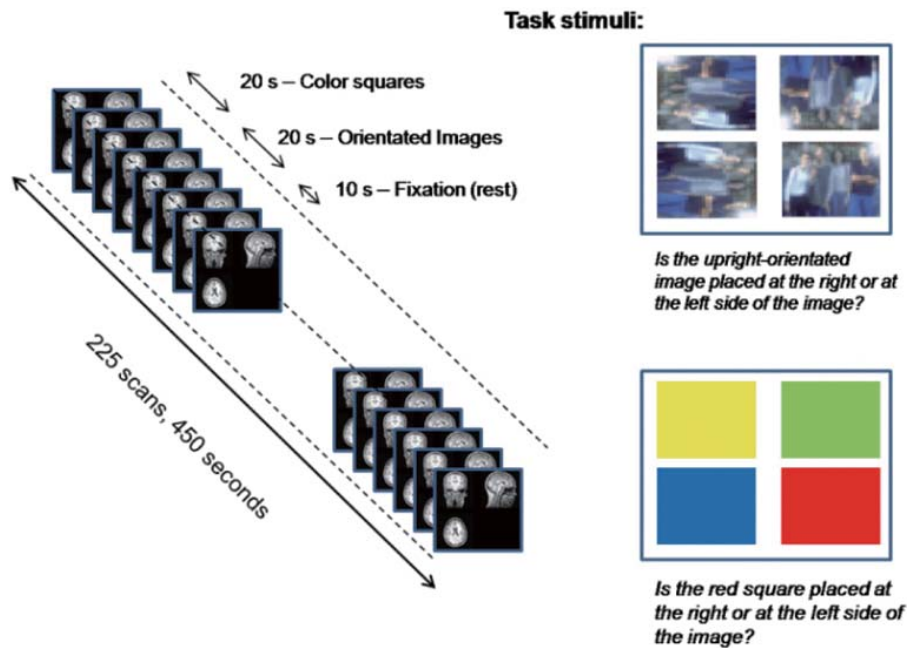


Fig. 1. Design of the fMRI task and stimuli used. Instructions were given to the subjects once, before the scanning session. See main text for full description of the task.

the right or on the left side of the screen by pressing a right/left button. During the control task (10 scans, duration: 20 s), four plain colored squares were presented in the same spatial arrangement as the images of the task stimuli, and the subject was asked to indicate whether the red square was on the right or the left side. As instructions were given to the subjects before the scanning session, no written instructions appeared on the screen during the task. The number of right/left responses was equivalent in the experimental and control conditions. Finally, a fixation/resting block was also presented, consisting of a white cross on a black screen (5 scans, duration: 10 s). The whole paradigm included 9 repetitions of the task, with a total duration of 450 s. (Fig. 1).

#### *MRI processing and analyses*

All the procedures carried out in the analysis of the three MR modalities used and their inferences are shown in Fig. 2. The functional brain networks extracted from ICA analysis of fMRI data were used to guide GM volumetric and DTI analyses in order to define the anatomical parts of the network. Neuroimaging tools used in all the steps are part of the FSL software (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl> [35]).

#### *Functional MRI processing and analysis*

First, each fMRI dataset was corrected for motion using MCFLIRT [36]. Then, non-brain voxels were removed using BET [37], spatial smoothing (Gaussian kernel of FWHM 8.0 mm) was applied, and the entire 4D dataset was normalized using the grand-mean intensity. High pass temporal filtering ( $\sigma = 50$  s) was applied to restrict for task-related temporal patterns, and 4D sets were finally registered to the MNI152 template using FLIRT [38]. After this preprocessing, fMRI analysis of the task was carried out using Tensorial Independent Component Analysis (TICA) [39] as implemented in MELODIC, part of FSL. MELODIC allows fMRI data to be broken down into three-dimensional sets of vectors which describe signal variation across the temporal domain (time-courses), the spatial domain (spatial maps), and the subject domain (subject modes). Spatial maps include regions of synchronous activations and deactivations, and subject modes reveal the strength of both these activations and deactivations; higher subject modes values indicate higher activations and higher deactivations of the positive and negative parts of an IC respectively. A simple Pearson correlation was performed on the rank-1 estimated time course and the task time-series model, in order to identify task-related components. Spatial maps of the IC of interest were thresholded using a Gaussian/gamma-mixture model and represented on the MNI standard template.

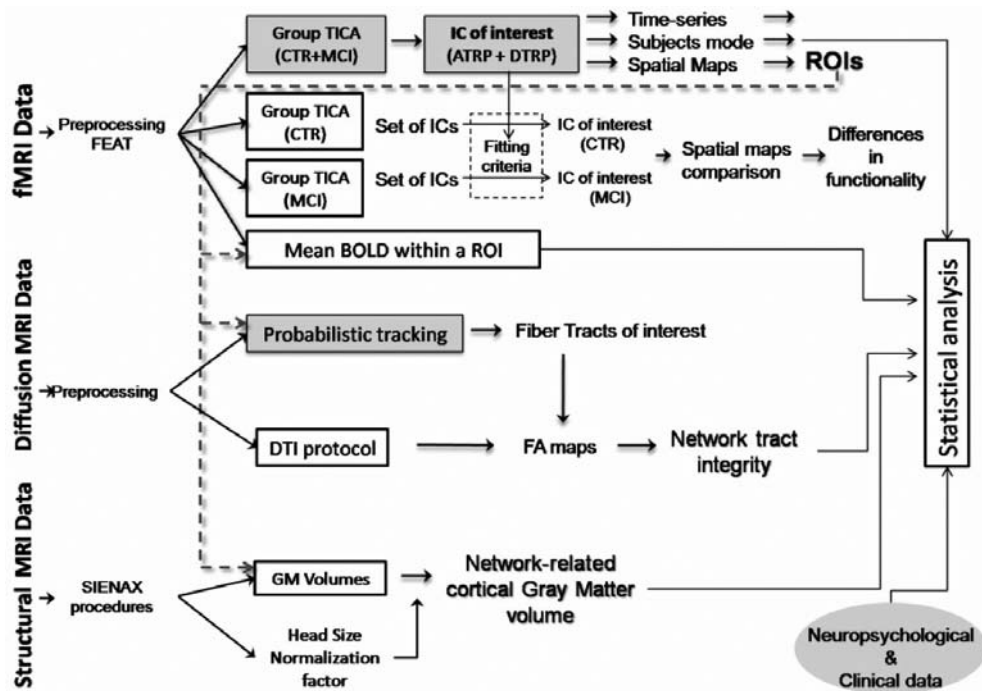


Fig. 2. Multi-modal MRI processing and analysis stream.

As shown in Fig. 2, group-TICA decompositions were performed at two levels. The first decomposition included data for all the subjects, with the specific aim of finding a common task-related region. Then, a second analysis was performed separately for the two groups (HE and MCI) in order to evaluate differences in the spatial extent of the network.

The main task-related component was selected from the whole-group analysis, using information from both time-series analysis and subject modes. Then, to select the analog component in the separate ICAs, we used the spatial cross correlation value (*fsicc* in FSL).

The ROI definition process was derived from the thresholded spatial map of the selected component. Large (i.e., more than 50 voxels) isolated clusters in GM regions were separated into binary ROIs.

Finally, from the preprocessed fMRI data, a measure of the mean BOLD activity within the defined ROIs was extracted separately for each individual and each condition (i.e., task, control and fixation).

#### Structural MRI analysis

Structural 3D-MPRAGE images were used to obtain GM volumes. Brain tissue volume, normalized for subject head size, was estimated with SIENAX [40]. In the first part of the SIENAX procedure, a volumetric scaling factor, which referred to the relationship be-

tween the subject's head size and the MNI152 standard template, was obtained for each subject. Next, tissue-type segmentation with partial volume estimation was carried out [41]. ROI GM volumes were extracted from the tissue-type segmentation. More specifically, each subject's GM volume was masked using the predefined binary ROIs (from functional activation maps) and the resulting volumes were calculated. Finally they were normalized using the scaling factor, to account for head-size differences. A voxel based morphometry (VBM) analysis was also performed on the GM maps, using tools available in FSL.

#### Diffusion MRI analysis

Diffusion MRI Images were analyzed using FDT (FMRIB's Diffusion Toolbox), a software tool for analysis of diffusion weighted images included in FSL [42–44]. First, data were corrected for distortions caused by the eddy currents in the gradient coils and for simple head motion, using the B0 non-diffusion data as a reference volume. Then, Fractional Anisotropy (FA) maps from each subject were obtained using a Diffusion Tensor Model fit. A probabilistic tractography algorithm was also applied to the diffusion images. For this purpose, in the first step, diffusion parameters were estimated using the BEDPOSTX tool from FSL, which computes a Bayesian estimation of the pa-

Table 1  
Sample demographics and cognitive characteristics

	HE a-MCI	t-test p value		
Age	75.20 (5.76)	74.33 (6.99)	0.91	0.37
Gender (women/men)	10/5	10/5	–	–
MMSE	27.67 (1.49)	25.50 (2.10)	3.31	< 0.001
Education (years)	8.93 (4.6)	8.87 (4.0)	0.04	0.97
<i>Memory functions</i>				
Recall of Constructional Praxis CERAD	8.13 (2.10)	4.73 (2.40)	4.12	< 0.0001
Free recall (FCSRT)	25.67 (5.76)	9.73 (5.21)	7.93	< 0.0001
Long term retrieval (FCSRT)	8.47 (1.99)	0.60 (1.12)	13.3	< 0.0001
<i>Frontal functions</i>				
Digit span (Inverse) (WAIS-III)	5.13 (1.88)	4.40 (1.68)	1.12	0.27
Symbol search (WAIS-III)	24.13 (10.09)	17.33 (5.51)	2.28	0.03
COWAT	24.80 (9.52)	23.53 (8.37)	0.38	0.70
Similarities (WAIS-III)	15.27 (4.57)	13.47 (3.46)	1.21	0.23
<i>Language</i>				
BNT	49.93 (5.39)	48.73 (4.26)	0.67	0.50
BDAE comprehension	14.93 (0.25)	14.87 (0.35)	0.59	0.55
<i>Visuoperceptive / visuospatial functions</i>				
Incomplete Letters VOSP	19.60 (1.92)	19.47 (0.92)	0.24	0.81
Number location VOSP	9.60 (0.63)	8.87 (1.64)	1.61	0.12
PDT score	14.07 (0.96)	13.60 (0.74)	1.49	0.15
<i>Praxis</i>				
Ideomotor praxis	5 (0)	5.40 (1.54)	1.00	0.32
Constructional praxis CERAD	9.47 (1.64)	9.60 (1.63)	2.22	0.82

HE: healthy elders, a-MCI: amnesic Mild Cognitive Impairment. MMSE: Mini-Mental State Examination. CERAD: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease: Clinical and Neuropsychology Assessment. FCRST: Free and cued selective reminding test. VOSP: Visual Object and Space Perception Battery. PDT: Perception Digital Test. WAIS-III: Wechsler Adult Intelligence Scale III version. COWAT: Controlled Oral Word Association Test. BNT: Boston Naming Test. BDAE: Boston Diagnostic Aphasia Battery.

rameters (i.e., diffusion parameters and local fiber directions) using sampling techniques and a model of Crossing Fibers [42]. The density functions obtained were subsequently used to estimate connectivity between pairs of ROIs (seed ROI and end ROI) with the PROBTRACX tool from FSL. The entire probabilistic tracking procedure was carried out in each subject's anatomical space. Using the probabilistic tractography algorithm, we obtained individual maps for each pair of ROIs, where each voxel value indicated the probability of having fibers connecting the two regions. These maps were thresholded (at 2% of their maximum) in order to remove very-low probability fiber paths. Finally, the pathways obtained were visually inspected. Individual FA scores inside each pathway were then used to quantify and compare the integrity of the paths identified (Fig. 2).

#### Statistical analyses

Functional measurements (mean BOLD signal within each ROI and condition), ROI GM volumes and tract integrity (mean FA along the tracts-of interest) were introduced into SPSS v.16 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA). Between groups compari-

son were performed using two-tailed t-tests. Partial correlations were also undertaken to investigate the relationship between functional and structural components of the network and the relationship with cognitive performance within each group. In the partial correlation analysis, age, gender, and task performance (when not evaluated) were included as covariates. Results were considered as statistically significant if they attained a p value < 0.05. When the analyses included multiple comparisons, Bonferroni correction was applied.

## RESULTS

Table 1 summarizes the main characteristics of the sample groups, including demographic variables and cognitive measures. HE and a-MCI patients were comparable in age, gender distribution, global cognitive performance, language, and visuoperceptive-visuospatial functions. Educational levels were also similar between groups. In general, attentional/frontal lobe functions were also comparable, except for the Symbol Search test assessing speed of processing and working memory. Despite the statistical differences that

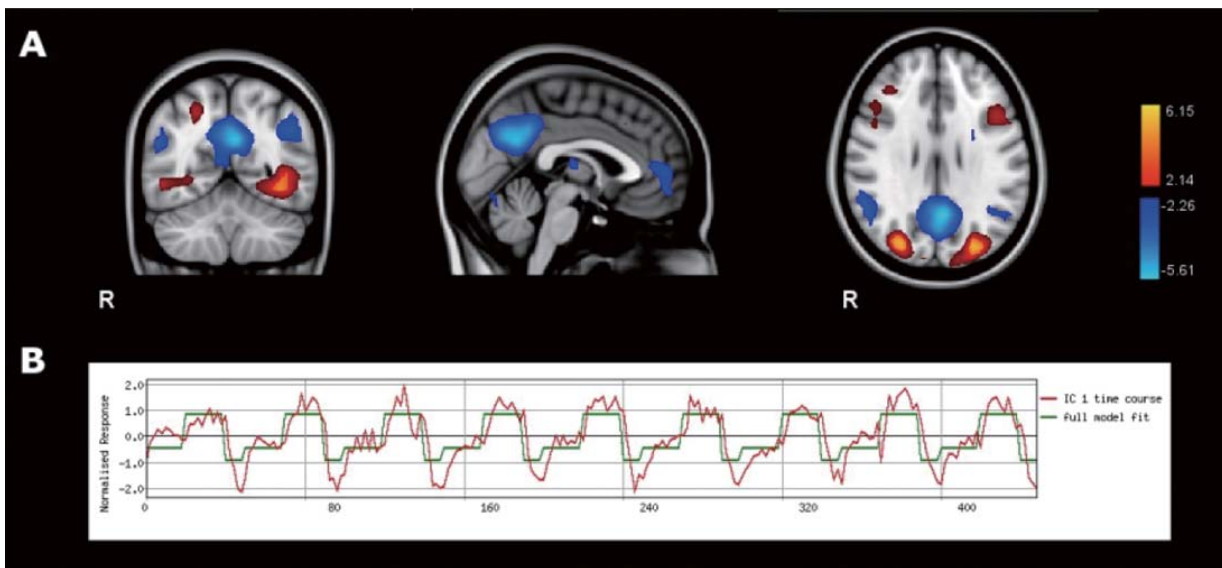


Fig. 3. Spatial maps (A) and time-course (B) of the main task-related component obtained from the whole group (HE and a-MCI subjects) TICA analysis. In (A), regions in red-yellow show the positive part of the component (task-activations) and regions in blue are the negative part (task-deactivations or rest-activations). In (B), red line shows the rank-1 approximation of the IC's temporal activation, and green line shows an idealized reference function of the task.

emerged for this test between groups, none of the patients was clinically impaired in any of the above cognitive domains when analyzed individually. As expected, patients performed worse on both verbal and visual episodic memory tests. Task performance scores (correct responses and response times) inside the scanner were lost for a high number of subjects ( $n = 6$ ) due to technical problems. Therefore, the score on the clinical test administered to the subjects before the MRI session was used in all cases to measure individual performance.

#### Functional networks identified

The main task-related component was selected from the group T-ICA decomposition, including all the subjects (HE and a-MCI). Its time course fitted the task time series with Pearson's  $r = 0.72$  ( $p < 0.001$ ) and its fMRI signal was specific for the task scans ( $t = 15.92$ ,  $p < 0.001$  in the blurred images > colored squares contrast). Other task-related components were found, but they were not considered in this study either because (i) they were not homogeneous throughout the whole sample (with very high subject modes in a few subjects, and very low or negative values in the others) or (ii) they did not form a consistent anatomical network (i.e., isolated regions located in the non-GM brain region).

This main task-related pattern comprised ATRP (Fig. 3A, red-yellow maps) and DTRP (Fig. 3A, blue maps). The ATRP included areas whose activity was synchronously higher in the task scans (i.e., blurred images) and concomitantly lower in the control stimulus (i.e., square colours) or even lower in rest scans (Fig. 3B, red line). Conversely, regions in the DTRP were strongly deactivated during the task scans, with medium levels in the control scans and no deactivation at rest. The ATRP network included anterior and posterior areas of both hemispheres, with the posterior parts of the right hemisphere being the most clearly represented. In posterior regions, the ATRP was formed bilaterally by parts of the primary (BA17) and secondary associative visual areas (BA18, BA19), temporoccipital, and parietal regions. Ventrally, the posterior segments of the lingual and fusiform cortices (BA 18/19) were involved bilaterally, as was the inferior temporal gyrus (BA37). Dorsally and in the medial aspect of the occipital lobe, the cuneus (BA18/31) was also included in the ATRP network, as well as the superior occipital gyrus (BA19) bilaterally. Close to this latter region and in the right hemisphere, parts of the inferior (gyrus angularis BA39) and superior parietal lobe (BA7) were also included. In frontal regions the inferior and middle frontal gyri were involved (BA 44/45, 6 and 9). In the right hemisphere the functional network also included parts of the BA6 corresponding to the precentral gyrus.

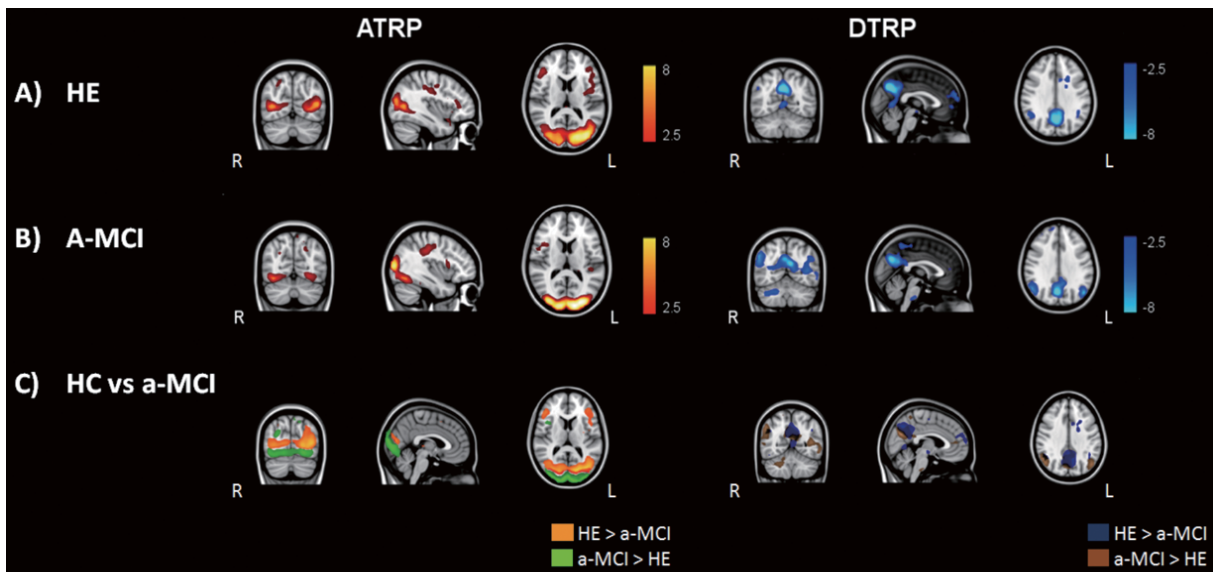


Fig. 4. Spatial Maps for the ATRP and DTRP corresponding to the main task-related component for the HE group (A) and the a-MCI group (B), and inferences between these maps (C).

The DTRP included medial and lateral cortical regions in close correspondence with those described as the DMN [25,27]. In medial prefrontal cortex regions, the anterior cingulate was involved (BA24 and BA32). In posterior areas the middle occipital (BA31) and parietal (BA7) precuneus, the posterior cingulate cortex (PCC, BA31, and BA23) and the retrosplenial cingulate cortex (BA29/30) were included. Finally, regions of the inferior parietal lobe (BA39 and BA40 of both hemispheres), and regions of the right superior temporal gyrus (BA41) also formed part of this network (see Figs 3 and 5).

#### *fMRI differences of the main task-related network between HE and a-MCI patients*

When HE and MCI groups were analyzed in separate ICAs, we found differences regarding the spatial extension of the main task-related component for both groups (see Methods for the procedures used in the selection of the component). Figure 4 shows the task-related component for each group (Fig. 4A and 4B) and inferences between them (Fig. 4C). For ease of presentation, activation and deactivation regions from a single IC were split into separate figures. Here we see that the spatial map of the ATRP comprised occipital regions that were more ventrally orientated in the MCI group than in HE. The differential areas were found in the middle occipital gyrus, fusiform, and lingual cortices (BA17/18/19), with the occipital fusiform cortex being

the region that showed the largest differences between groups, extending to the anterior fusiform (temporal) among MCI. In contrast, among HE, increased activity was found in the cuneal cortex, the middle occipital gyrus (BA19), and the inferior (BA39) and superior parietal lobe (BA7). Finally, in anterior regions we found a large cluster of increased activation among HE in the inferior frontal gyrus (BA6/BA46). However, in nearby areas a-MCI also exhibited a stronger fMRI signal (inferior frontal gyrus and precentral gyrus (BA6/9)). Smaller clusters of differences were further observed in the orbital cortex (BA13/BA47) where HE showed increased activations, and in the postcentral, and precentral sulcus (BA2/3/4), subgenual cortex (BA25/32) and frontal pole, where the fMRI signal was higher in a-MCI than in HE.

The spatial extension of the DTRP also differed between groups. First, the posteromedial area was larger for the HC group in the precuneus (BA7) and PPC (BA31 and BA 29/30) cortices. Conversely, in a-MCI the extension was bigger in inferior parietal lobes including the angular gyrus (BA39) bilaterally and the supramarginal gyri in the right hemisphere (BA40).

#### *Gray matter volumes within the identified functional networks*

Several ROIs were defined on the basis of the functional results reported (see Methods and Fig. 2 for the methodology used). First, four isolated regions were



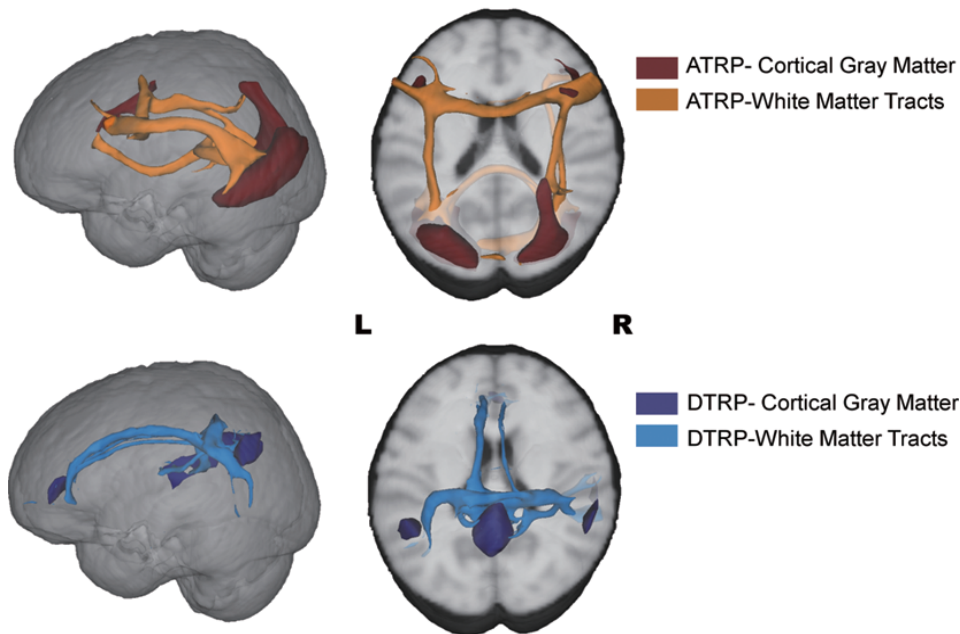


Fig. 5. Three dimensional representation of the structural brain network subserving the main task-related ICA pattern in healthy elders and a-MCI patients. A complete description of all the cortical areas and WM connectivity paths shown in the figure is given in the main text.

identified within the ATRP, two in posterior brain areas (posterior right and posterior left) and two in the anterior part (anterior right and anterior left). Furthermore, three ROIs were defined from DTRP areas (henceforth the anterior cingulate ROI, posteromedial ROI, and bilateral inferior parietal ROIs). Note that in the case of the DTRP, the two inferior parietal regions (bilaterally) were considered as a single ROI.

GM volumes were measured within each ROI. Group differences are shown in Table 2 and Fig. 7. GM volumes in areas of the DTRP showed statistically significant differences, mainly due to differences in the posteromedial ROI (precuneus/PCC).

Moreover, a standard whole-brain VBM analysis was also performed to compare GM from both groups. Results from this analysis are not shown, but they corroborated the previous literature on MCI patients (being the main differences in regions in the temporal lobes, such as the hippocampus and parahippocampus, lingual gyrus, and temporal fusiform,  $p < 0.01$ , FWE corrected).

#### White matter connectivity

WM fiber tracts were identified using probabilistic tractography as described previously. Results can be seen in Figs 5 and 6. Figure 5 contains a three-

dimensional representation of cortical areas and fiber pathways connecting them (pathways are averaged across all the subjects). In Fig. 6, average connectivity maps for each group are represented separately on an FA template.

In the ATRP, fronto-occipital connectivity was analyzed separately for each hemisphere (using its posterior ROI and anterior ROI as seed regions), and inter-hemispheric connectivity was analyzed between both the two anterior and the two posterior ROIs. Fiber tracking results indicated that the main paths connecting ATRP regions were the superior longitudinal fasciculus bilaterally, the right inferior longitudinal fasciculus, and the right inferior fronto-occipital fasciculus. Moreover, the splenium and the genu of the corpus callosum provided inter-hemispheric connectivity.

As regards the identification of WM fiber tracts connecting DTRP areas, the cingulum bundle bilaterally was clearly identified as the major component connecting the posteromedial ROI with the anterior cingulate. Furthermore, DTRP-related structural connectivity was also found in the right inferior fronto-occipital fasciculus, the inferior longitudinal fasciculus bilaterally and, finally, in the splenium of the corpus callosum connecting posteromedial and bilateral inferior parietal ROIs.

Moreover, FA values were used to quantify fiber integrity within each pathway. Comparisons of these

Table 2  
GM and FA measurements within the ATRP and DTRP areas

	HE	a-MCI	t-test	p value
<i>ATRP measures</i>				
GM volumes (mm <sup>3</sup> )	31564 (2876)	29576 (3627)	1.70	0.11
Left posterior areas	15894 (1720)	14816 (1970)	1.59	0.12
Left anterior areas	1581 (125)	1523 (160)	1.09	0.28
Right posterior areas	11343 (1306)	10596 (1610)	1.39	0.17
Right anterior areas	2746 (304)	2639 (257)	1.04	0.31
FA scores				
Left longitudinal tracts	0.445 (0.038)	0.427 (0.041)	1.23	0.22
Right longitudinal tracts	0.410 (0.031)	0.386 (0.031)	2.07	0.05
Anterior CC	0.399 (0.084)	0.391 (0.037)	0.35	0.73
Posterior CC	0.460 (0.057)	0.439 (0.067)	0.92	0.36
<i>DTRP measures</i>				
GM volumes (mm <sup>3</sup> )	15240 (1079)	14112 (1564)	2.30	0.03
Posteromedial area	6897 (649)	6195 (1050)	2.20	0.04
Bilateral parietal areas	6477 (710)	6059 (783)	1.52	0.13
Anterior cingulate	1891 (203)	1797 (216)	0.61	0.55
FA scores	0.387 (0.032)	0.362 (0.029)	2.56	0.016
Cingulum bundle	0.396 (0.032)	0.369 (0.025)	2.54	0.017
Posterior interhemispheric tracts	0.397 (0.038)	0.371 (0.034)	2.0	0.06

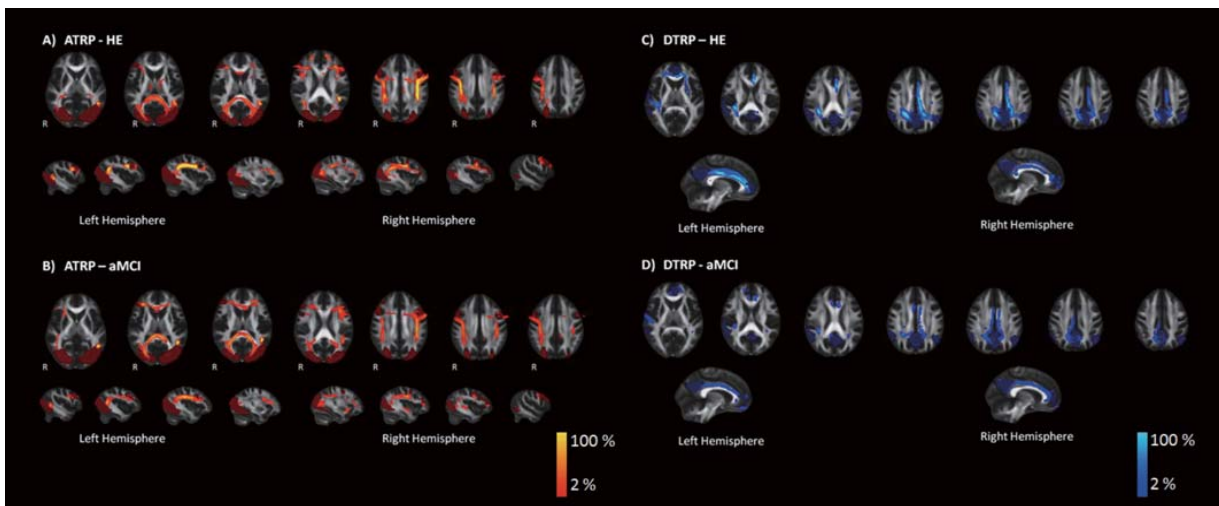


Fig. 6. Mean probabilistic maps reflecting WM connectivity in both ATRP (A and B) and DTRP (C and D) and for the two groups (HE and a-MCI) separately.

results showed significant differences between groups only in DTRP related pathways, due mainly to differences in the tracts of the cingulum bundle (see Table 2 and Fig. 7).

#### *Correlations between structural measures, functional activation, and task performance*

##### *Task/rest activations*

As expected, there was a high correlation between the mean BOLD signal in ATRP regions during task performance and in DTRP regions during rest periods for the HE and a-MCI groups ( $r = 0.83, p < 0.001$ ).

##### *Activation and task performance*

Mean BOLD signal measured in the posteromedial ROI of the DTRP during rest (rest-DTRP activation) correlated positively with task performance only in the HE group ( $r = 0.72, p = 0.03$ , corrected). No relationships with the PDT score and task-ATRP activations or rest-DTRP activation were found in the a-MCI group.

##### *Structure and task performance*

No relationships were found in the HE group between main task-related pattern structural measures and task performance. Moreover, for the a-MCI group, two significant correlations were found, both concerning

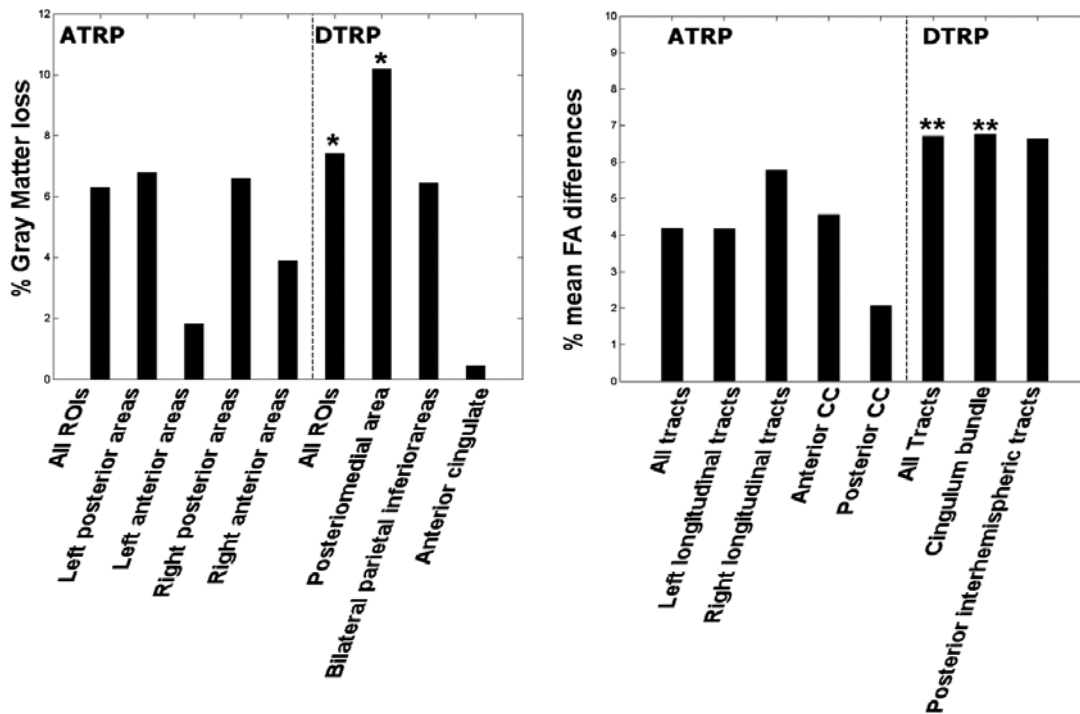


Fig. 7. Percentages of mean GM and tract-related FA loss for the MCI group relative to the HE group. An extended description of the anatomical cortical regions included in each ROI, and fiber tracts considered in each connectivity pathway is given in the main text. \* $p < 0.05$  in the HC vs. a-MCI t-test, and \*\* $p < 0.02$  in the HC versus a-MCI t-test.

DTRP-related measures. Task performance correlated positively with both DTRP GM volumes ( $r = 0.60$ ,  $p = 0.04$ , uncorrected) and mean FA within the longitudinal medial tracts of the DTRP ( $r = 0.62$ ,  $p = 0.03$ , uncorrected). However, these two latter results did not survive correction for multiple comparisons.

#### Function and structure

When the mean BOLD signal was measured individually in all the ROIs defined, only the signal measured in the two ROIs formed by bilateral parietal regions of the DTRP (BA 39/40) showed negative correlations with its underlying GM volumes in the a-MCI group ( $r = -0.73$ ,  $p = 0.011$ ).

Finally, some analyses considering the follow-up results were performed, a-MCI patients were divided into two groups, converters ( $n = 5$ ) and no converters ( $n = 10$ ). There were no differences between the two subgroups (converters versus no converters) in any of the measures found to be sensitive to differentiate between HE and a-MCI patients.

## DISCUSSION

To our knowledge, this is the first MRI-based study in MCI patients to characterize the GM and WM anatomical components of a task related cognitive cerebral network. Several main findings emerge from our multimodal MRI study. First, the ICA analyses identified two major anatomic-functional networks in the main component related to the processing of the visual task. The ATRP was identified by virtue of higher activity mainly in occipital, temporal, and parietal areas, and to a lesser extent in frontal regions. Likewise, the DTRP comprised areas anatomically comparable to the DMN in which increased activity was observed during passive processing. In the ATRP network, a-MCI exhibited functional reorganizations reflected by an increase in the fMRI signal in ventral occipital areas compared to healthy elders in the context of comparable GM atrophy and WM fiber integrity. In DTRP regions, patients presented deactivation deficits in posteromedial areas and increased deactivation in lateral parietal regions. a-MCI patients showed GM atrophy in the regions underlying the DTRP network, particularly in the precuneus and PCC, as well as reduced WM integrity in struc-

tural pathways connecting DTRP areas, specifically in the cingulate bundles. Finally, relationships between structure, function and performance were found only in DTRP-related measures; in the HE group, activation of the PCC during rest was correlated with task performance, and among patients, the structural measures of the DTRP network correlated with task performance. Nonetheless, this latter result should be considered with caution, since it did not survive multiple comparison correction.

Our findings for the ATRP revealed that regions activated during the processing of complex visual pictures mainly span primary and lateral extrastriate regions, the posterior parts of the temporal lobes (temporo-occipital) and the superior and inferior parietal cortices. Overall, this pattern of activation is consistent with previous PET and fMRI studies of brain activity associated with face and object recognition, spatial localization [45–48], and visuospatial attention [49]. Hence, topographic analysis of the ATRP network suggests that our task incorporates both visuo-perceptive components of the ventral visual stream (identification of the blurred images) and the visuospatial function related to the dorsal visual system (selecting the image in a given position in space). Moreover, and especially in the right hemisphere, areas of the dorsolateral prefrontal cortex including the inferior prefrontal (BA45) and dorsal premotor (BA6) cortices were also found to be part of the network. The involvement of these regions also corroborates the findings of Bokde et al. [20] in MCI patients using a visuo-perceptive task and functional connectivity analyses, and those of Vannini et al. [18] who used a visuospatial task based on an angle discrimination test in MCI. In our study the observation of frontal lobe activity supports the idea that it includes both visual systems, as the prefrontal cortex is the principal area of integration of visual information from the ventral and dorsal pathways [50].

The probabilistic tractography analysis identified WM tracts connecting ATRP cortical sites compatible with anatomical descriptions of the superior longitudinal fasciculus dorsally and the inferior longitudinal and fronto-occipital fasciculi ventrally. In general, the identification of these major bundles corroborates a recent study in young healthy subjects which identified WM tracts based on fMRI activations during a visuospatial attention task [51]. The convergence between the two sets of findings provides methodological support for the idea that the pathways identified in our studies among HE and MCI correspond to the actual anatomical connections between dorsolateral and posterior functional

brain areas. The fact that in our study superior longitudinal fasciculi were identified bilaterally, whereas inferior longitudinal and inferior fronto-occipital fasciculi were only located in the right hemisphere, may suggest a stronger load of the task in the dorsal than in the ventral pathway.

Regarding group comparisons for the ATRP functionality, a-MCI showed higher activity than HE in more ventral cortices. Previous studies [22,52] have reported increased activations in AD in the fusiform gyrus during visuospatial processing and reduced activations in areas of the dorsal stream. These findings build on previous fMRI studies of visuospatial [18,19] and visuo-perceptive [19,20] functions in MCI, showing that patients tend to use alternative networks during complex visual processing. One possible explanation may be that a-MCI patients use distinct functional strategies, as it has already been observed by Bokde et al. [22]. Alternatively, the increased activation in ventral pathway may reflect the use of the same functional strategy as in HE (albeit used less efficiently) and the need to recruit additional resources as a compensatory mechanism. The neuropathological damage present in MCI [53–56] may account for the existence of these functional compensatory mechanisms. We also observed some differences in frontal lobe areas, including both increased and decreased activations. Increased activation would reveal compensatory mechanisms in anterior areas coexisting with compromised posterior systems [19]. In contrast, areas of decreased activation may reflect dysfunctional prefrontal regions characteristic of this condition, as previously shown in an fMRI study of executive functions [15]. Overall, the fMRI frontal lobe findings were relatively modest compared to the posterior regions and included increased and decreased activations; their interpretation is complex and cannot be completely elucidated in the present study.

Concerning the comparison of the anatomical components of the ATRP, GM volumes and fiber tract FA measures did not reveal significant differences between a-MCI and healthy elders. In our study, the morphological characteristics of the ATRP did not correlate with task performance or fMRI changes. However, as functional differences were found, these results are in line with previous fMRI reports that showed functional reorganizations preceding marked MRI-detectable brain atrophy, a finding already demonstrated in studies of at-risk dementia populations [6,57,58]. The lack of structure-function associations of our study is at variance with those of Teipel and colleagues [21] in MCI, who found relationship between brain activity and the

underlying GM volumes. The differences between the results are probably due to distinct methodological approaches (region-based vs. whole-brain analyses) and may also be related to different levels of task-demands. Furthermore, a study by Gold et al. [59] also reported differential fMRI patterns in the fusiform gyrus between a-MCI and healthy elders, accompanied by preserved underlying anatomy (but GM atrophy in the medial temporal lobe was observed in a whole-brain VBM analysis). In summary, although our study shows that a-MCI patients recruit a differential pattern of brain activity; these functional changes do not seem to correspond to clearly detectable damage in GM and WM regions of this network.

Using an ICA approach – a powerful tool to find spatio-temporally independent brain networks – we were able to identify, in addition to the main task-activation areas, the task-deactivation network which closely matched the anatomical regions of the DMN [25,26]. First, within this pattern, we observed a high correlation between rest-related activation and task performance in the HE group, which was in concordance with previous studies of DMN activity and its relationship with task outcome [60,61]. In contrast, such correlations could not be observed for the functional components of the ATRP in any of the studied groups. A plausible explanation is that the narrow range of score distributions for task performance precluded to observe covariations with BOLD variability in a brain network (ATRP) comprised of brain regions directly involved in high order visual processing, as all healthy elders (but also most patients) obtained high scores with low inter-individual variability. On the other hand, the associations regarding the posterior DMN could reflect either a system already affected by the ageing process [62] and/or a system that correlates with cognitive function in a more general way [27], and thus being more sensitive to a broader range of subtle behavioral differences. This relationship (DMN and task performance) was not found in a-MCI, probably due to the atrophy – in DTRP areas in this group. Furthermore, from the separate ICAs approach, in the DTRP network, a-MCI exhibited deficits mainly in posteromedial structures, including the PCC and the precuneus. These observations have been already reported in fMRI studies on memory tasks [13,28,63,64] and in resting-fMRI studies [30,65,66]. A further observation was that besides exhibiting disruption of posteromedial deactivations, the opposite pattern was observed in lateral inferior parietal areas. These latter findings are in agreement with those of Qi et al. [30], who reported

areas of greater signal in parietal regions in the context of reduced PCC activity, and are also comparable with those of Bai et al. [66]. These neocortical activations have been associated to compensatory responses related to memory process. Our study also provides the direct observation that higher task-related deactivation in inferior parietal regions appears to be in response to greater GM atrophy, as negative correlations between GM volumes and brain activity were observed only for the a-MCI group in these particular regions.

The presence of both significant GM atrophy and reduced microstructural WM damage in DTRP regions in our patients was one of the principal findings of our investigation. To our knowledge, only two previous reports were specifically designed to investigate the relationship between structural changes and functional resting-state networks in a-MCI; these studies included VBM analyses and were restricted to GM measures [65, 66]. In one of those studies, GM atrophy in patients did not overlap with the functional resting networks identified, including the DMN [65]; however, they also found GM atrophy in the PPC/precuneus area. As discussed above, here DTRP structural alterations emerged in the context of an anatomically preserved main-task (i.e., ATRP) brain network. Furthermore, we observed a correlation between structural DTRP-related measures (GM volume and mean FA within the cingulum) and task performance, suggesting that structural alterations in the DMN already have an impact on cognitive variation in a-MCI. However, these latter results did not survive correction for multiple comparisons and thus need to be considered very cautiously. Taken together, these observations emphasize the need to consider not only the functionality but also the structure of the DMN-related regions as early markers of neurodegeneration in preclinical dementia, a notion that in general is compatible with the progressive convergence of functional, molecular and structural damage in this area in established AD patients reported by Buckner and colleagues [27,67]. More specifically, the clinical relevance of functional and structural alterations in these posteromedial regions in a-MCI has been reported in separate recent findings revealing focal GM atrophy in the posterior cingulate region (BA 29/30 and BA 23 retrosplenial cortex [68], as well as regional metabolic dysfunctions [69,70] and fMRI deactivation alterations [64] in a-MCI patients with confirmed conversion to dementia.

Finally, in our study we identified major WM fiber bundles connecting DTRP cortical areas. In spite of the methodological differences in DTI sequence ac-

quisition and processing, these results corroborate recent resting-state fMRI findings that the connectivity of functional networks including the DMN is generally supported by direct structural connectivity, as proven by the identification of the same main bundles, such as the cingulum [71,72], the superior fronto-occipital fasciculus, and the genu of the corpus callosum [73]. Anatomically, a-MCI patients showed significant FA reductions in medial tracts compatible with the anatomical characterization of the cingulate bundle. In our previous DTI study using a voxel-wise DTI analysis, we observed mean FA reductions among a-MCI in all regions where AD patients showed alterations, including parts of this pathway [74]. Thus, while the results are concordant, the focused damage reported here in this particular tract, but not the other damage identified in the present study, is probably due to a more thorough methodological approach involving the performance of probabilistic tractography rather than whole-brain voxel-wise analyses. Overall, cingulate bundle involvement based on FA measures has been demonstrated in recent DTI literature in MCI [75–79]. The novelty of our study, besides being one of the few investigations of MCI to include tractography, is that we demonstrate microstructural damage of this bundle and posterior GM-associated regions and do not isolate them on the basis of an anatomical label, but as part of the anatomy integrated within functional deactivation areas during task performance. In the present report, we used FA as a measure of WM integrity, as it has been widely used in the literature. However it should be noted that underlying this common definition there may be a number of neuropathological or neuroanatomical processes such as demyelination, axon density, axonal membrane integrity, wallerian degeneration or intravoxel coherence of fiber integration [74]. Furthermore, a full established clinical-anatomopathological model of FA changes is not available. Thus, the general interpretation of FA reductions as loss of WM integrity stated in our study should be considered in the light of the current partial knowledge, which may change in the near future.

Several limitations of the present study should be considered and improved in further research. First, the inclusion of an AD group would have been desirable to investigate the anatomic-functional changes of the network identified, as brain damage progresses from normal aging to a-MCI to established dementia. However, as we stated above, the focus of the investigation was to determine which structural and functional components of the network and their interactions were already

altered in the a-MCI stage, and so we only included patients with normal performance on the PDT test, validated in the Spanish population [33]. For this reason we were unable to gather a group of AD patients with clearly preserved cognitive function in this domain. A second limitation concerns the behavioral variable used in the correlations between the structural and functional findings of our integrated networks. Due to technical problems, a significant proportion of responses obtained within the fMRI were lost and thus we were obliged to substitute them with the direct scores of the PDT test, for correlations with MRI data. Since our fMRI task was a direct adaptation of this test using the same stimuli, one would expect similar proportional performances in both tasks, but the actual direct correlations between responses recorded within the fMRI were not available. Finally, another limitation was that, besides having the follow-up information, the small number of subjects in the sample probably precluded to establish conclusions of how the parameters analyzed here could be helpful to determine conversion from MCI to AD.

In summary, the results of the present study provide novel information that should be useful for a better understanding of the functional and structural brain characteristics in MCI as a prodromal condition of AD. First, our study confirms previous findings indicating that the investigation of the visual system using fMRI provides useful information reflecting early changes in this condition. Importantly, they extend former knowledge demonstrating that brain dysfunctions, mainly in the dorsal pathway and probably reflecting compensatory mechanisms, can be evidenced at the stages where clinical compromise of visuoperceptive and visuospatial functions is excluded. This latter observation reinforces the idea that fMRI information may be considered as a potential biological marker of prodromal AD. Second, like some of the cortical areas of the visual system, the DMN especially in its posteromedial part exhibited functional abnormalities. Further, in our analytical approach from the fMRI information we were able to observe cortical atrophy as an anatomical substrate of these deactivation deficits. In the same comprehensive analyses, WM compromise was evidenced in the cingulate bundle, a main fiber pathway conforming part of the structural network of the DMN, as identified in previous studies. Thus, a second and most relevant implication derived from our study is that it supports the use of ICA-based, multimodal MRI investigation as a particularly sensitive approach to illuminate the breakdown of the anatomofunctional com-

ponents of the DMN in early AD, differentiating them from healthy aging. Finally it is also interesting to note at a practical level that since the cognitive task adapted to the fMRI was clinically spared in all patients, our multimodal study represents an heuristic approach to investigate the functional and structural status of relevant brain networks in prodromal stages of AD reducing common problems associated with complex tasks such as very poor execution levels, or inability to understand or perform the task in a proportion of patients.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was funded by a Spanish Ministerio de Educación y Ciencia research project award (SAF2007-66270) and the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2009-07489) to Dr. David Bartrés-Faz and funding from the Generalitat de Catalunya to the Neuropsychology Research Group (2009SGR941).

Authors' disclosures available online (<http://www.jalz.com/disclosures/view.php?id=524>).

## REFERENCES

- [1] Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, Ritchie K, Rossor M, Thal L, Winblad B (2001) Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* **58**, 1985-1992.
- [2] Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL, Rubin EH, Berg L (2001) Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol* **58**, 397-405.
- [3] Lopez OL, Kuller LH, Becker JT, Dulberg C, Sweet RA, Gach HM, Dekosky ST (2007) Incidence of dementia in mild cognitive impairment in the cardiovascular health study cognition study. *Arch Neurol* **64**, 416-420.
- [4] Hampel H, Burger K, Teipel SJ, Bokde AL, Zetterberg H, Blennow K (2008) Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* **4**, 38-48.
- [5] Ries ML, Carlsson CM, Rowley HA, Sager MA, Gleason CE, Asthana S, Johnson SC (2008) Magnetic resonance imaging characterization of brain structure and function in mild cognitive impairment: a review. *J Am Geriatr Soc* **56**, 920-934.
- [6] Bookheimer SY, Strojwas MH, Cohen MS, Saunders AM, Pericak-Vance MA, Mazziotta JC, Small GW (2000) Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N Engl J Med* **343**, 450-456.
- [7] Woodard JL, Seidenberg M, Nielson KA, Antuono P, Guidotti L, Durgerian S, Zhang Q, Lancaster M, Hantke N, Butts A, Rao SM (2009) Semantic memory activation in amnesic mild cognitive impairment. *Brain* **132**, 2068-2078.
- [8] Bai F, Zhang Z, Watson DR, Yu H, Shi Y, Yuan Y, Zang Y, Zhu C, Qian Y (2009) Abnormal functional connectivity of hippocampus during episodic memory retrieval processing network in amnesic mild cognitive impairment. *Biol Psychiatry* **65**, 951-958.
- [9] Dickerson BC, Salat DH, Bates JF, Atiya M, Killiany RJ, Greve DN, Dale AM, Stern CE, Blacker D, Albert MS, Sperling RA (2004) Medial temporal lobe function and structure in mild cognitive impairment. *Ann Neurol* **56**, 27-35.
- [10] Dickerson BC, Salat DH, Greve DN, Chua EF, Rand-Giovannetti E, Rentz DM, Bertram L, Mullin K, Tanzi RE, Blacker D, Albert MS, Sperling RA (2005) Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology* **65**, 404-411.
- [11] Machulda MM, Ward HA, Borowski B, Gunter JL, Cha RH, O'Brien PC, Petersen RC, Boeve BF, Knopman D, Tang-Wai DF, Ivnik RJ, Smith GE, Tangalos EG, Jack CR, Jr (2003) Comparison of memory fMRI response among normal, MCI, and Alzheimer's patients. *Neurology* **61**, 500-506.
- [12] Machulda MM, Senjem ML, Weigand SD, Smith GE, Ivnik RJ, Boeve BF, Knopman DS, Petersen RC, Jack CR (2009) Functional magnetic resonance imaging changes in amnesic and nonamnesic mild cognitive impairment during encoding and recognition tasks. *J Int Neuropsychol Soc* **15**, 372-382.
- [13] Celone KA, Calhoun VD, Dickerson BC, Atri A, Chua EF, Miller SL, DePeau K, Rentz DM, Selkoe DJ, Blacker D, Albert MS, Sperling RA (2006) Alterations in memory networks in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an independent component analysis. *J Neurosci* **26**, 10222-10231.
- [14] Dannhauser TM, Walker Z, Stevens T, Lee L, Seal M, Shergill SS (2005) The functional anatomy of divided attention in amnesic mild cognitive impairment. *Brain* **128**, 1418-1427.
- [15] Rosano C, Aizenstein HJ, Cochran JL, Saxton JA, De Kosky ST, Newman AB, Kuller LH, Lopez OL, Carter CS (2005) Event-related functional magnetic resonance imaging investigation of executive control in very old individuals with mild cognitive impairment. *Biol Psychiatry* **57**, 761-767.
- [16] Bosch B, Bartres-Faz D, Rami L, Arenaza-Urquijo EM, Fernandez-Espejo D, Junque C, Sole-Padullés C, Sanchez-Valle R, Bargallo N, Falcon C, Molinuevo JL (2010) Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Cortex* **46**, 451-461.
- [17] Lenzi D, Serra L, Perri R, Pantano P, Lenzi GL, Paulesu E, Caltagirone C, Bozzali M, Macaluso E (2009) Single domain amnesic MCI: A multiple cognitive domains fMRI investigation. *Neurobiol Aging*, in press.
- [18] Vannini P, Almkvist O, Dierks T, Lehmann C, Wahlund LO (2007) Reduced neuronal efficacy in progressive mild cognitive impairment: a prospective fMRI study on visuospatial processing. *Psychiatry Res* **156**, 43-57.
- [19] Bokde AL, Lopez-Bayo P, Born C, Dong W, Meindl T, Leinsinger G, Teipel SJ, Faltraco F, Reiser M, Moller HJ, Hampel H (2008) Functional abnormalities of the visual processing system in subjects with mild cognitive impairment: an fMRI study. *Psychiatry Res* **163**, 248-259.
- [20] Bokde AL, Lopez-Bayo P, Meindl T, Pechler S, Born C, Faltraco F, Teipel SJ, Moller HJ, Hampel H (2006) Functional connectivity of the fusiform gyrus during a face-matching task in subjects with mild cognitive impairment. *Brain* **129**, 1113-1124.
- [21] Teipel SJ, Bokde AL, Born C, Meindl T, Reiser M, Moller HJ, Hampel H (2007) Morphological substrate of face matching in healthy ageing and mild cognitive impairment: a combined MRI-fMRI study. *Brain* **130**, 1745-1758.
- [22] Bokde AL, Lopez-Bayo P, Born C, Ewers M, Meindl T, Teipel SJ, Faltraco F, Reiser MF, Moller HJ, Hampel H (2010) Alzheimer disease: functional abnormalities in the dorsal visual pathway. *Radiology* **254**, 219-226.

- [23] Bokde AL, Ewers M, Hampel H (2009) Assessing neuronal networks: Understanding Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* **89**, 125-133.
- [24] Shulman GL, Corbetta M, Buckner RL, Raichle ME, Fiez JA, Miezin FM, Petersen SE (1997) Top-down modulation of early sensory cortex. *Cereb Cortex* **7**, 193-206.
- [25] Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL (2001) A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 676-682.
- [26] Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V (2003) Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 253-258.
- [27] 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.
- [28] Pihlajamaki M, DePeau KM, Blacker D, Sperling RA (2008) Impaired medial temporal repetition suppression is related to failure of parietal deactivation in Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* **16**, 283-292.
- [29] Rombouts SA, Damoiseaux JS, Goekoop R, Barkhof F, Scheltens P, Smith SM, Beckmann CF (2009) Model-free group analysis shows altered BOLD FMRI networks in dementia. *Hum Brain Mapp* **30**, 256-266.
- [30] Qi Z, Wu X, Wang Z, Zhang N, Dong H, Yao L, Li K (2010) Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. *Neuroimage* **50**, 48-55.
- [31] Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Jr, Chance JM, Filos S (1982) Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol* **37**, 323-329.
- [32] Warrington EK and James M (1991) A new test of object decision: 2D silhouettes featuring a minimal view. *Cortex* **27**, 370-383.
- [33] Rami L, Serradell M, Bosch B, Villar A, Molinuevo JL (2007) Perception Digital Test (PDT) for the assessment of incipient visual disorder in initial Alzheimer's disease. *Neurologia* **22**, 342-347.
- [34] Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA (1987) MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol* **149**, 351-356.
- [35] Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM (2004) Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* **23 Suppl 1**, S208-S219.
- [36] Jenkinson M, Bannister P, Brady M, Smith S (2002) Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage* **17**, 825-841.
- [37] Smith SM (2002) Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* **17**, 143-155.
- [38] Jenkinson M and Smith S (2001) A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal* **5**, 143-156.
- [39] Beckmann CF and Smith SM (2005) Tensorial extensions of independent component analysis for multisubject FMRI analysis. *Neuroimage* **25**, 294-311.
- [40] Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, Matthews PM (2001) Normalized accurate measurement of longitudinal brain change. *J Comput Assist Tomogr* **25**, 466-475.
- [41] Zhang Y, Brady M, Smith S (2001) Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Trans Med Imaging* **20**, 45-57.
- [42] Behrens TE, Berg HJ, Jbabdi S, Rushworth MF, Woolrich MW (2007) Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain? *Neuroimage* **34**, 144-155.
- [43] Behrens TE, Johansen-Berg H, Woolrich MW, Smith SM, Wheeler-Kingshott CA, Boulby PA, Barker GJ, Sillery EL, Sheehan K, Ciccarelli O, Thompson AJ, Brady JM, Matthews PM (2003) Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci* **6**, 750-757.
- [44] Behrens TE, Woolrich MW, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Nunes RG, Clare S, Matthews PM, Brady JM, Smith SM (2003) Characterization and propagation of uncertainty in diffusion-weighted MR imaging. *Magn Reson Med* **50**, 1077-1088.
- [45] Haxby JV, Grady CL, Horwitz B, Ungerleider LG, Mishkin M, Carson RE, Herscovitch P, Schapiro MB, Rapoport SI (1991) Dissociation of object and spatial visual processing pathways in human extrastriate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **88**, 1621-1625.
- [46] Haxby JV, Horwitz B, Ungerleider LG, Maisog JM, Pietrini P, Grady CL (1994) The functional organization of human extrastriate cortex: a PET-rCBF study of selective attention to faces and locations. *J Neurosci* **14**, 6336-6353.
- [47] Clark VP, Keil K, Maisog JM, Courtney S, Ungerleider LG, Haxby JV (1996) Functional magnetic resonance imaging of human visual cortex during face matching: a comparison with positron emission tomography. *Neuroimage* **4**, 1-15.
- [48] Grill-Spector K (2003) The neural basis of object perception. *Curr Opin Neurobiol* **13**, 159-166.
- [49] Corbetta M, Miezin FM, Shulman GL, Petersen SE (1993) A PET study of visuospatial attention. *J Neurosci* **13**, 1202-1226.
- [50] Ungerleider LG, Courtney SM, Haxby JV (1998) A neural system for human visual working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 883-890.
- [51] Umarova RM, Saur D, Schnell S, Kaller CP, Vry MS, Glauche V, Rijntjes M, Hennig J, Kiselev V, Weiller C (2010) Structural connectivity for visuospatial attention: significance of ventral pathways. *Cereb Cortex* **20**, 121-129.
- [52] Prvulovic D, Hubl D, Sack AT, Melillo L, Maurer K, Frolich L, Lanfermann H, Zanella FE, Goebel R, Linden DE, Dierks T (2002) Functional imaging of visuospatial processing in Alzheimer's disease. *Neuroimage* **17**, 1403-1414.
- [53] Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR (2006) Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol* **63**, 38-46.
- [54] Bennett DA, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, Wilson RS (2005) Mild cognitive impairment is related to Alzheimer disease pathology and cerebral infarctions. *Neurology* **64**, 834-841.
- [55] Saito Y and Murayama S (2007) Neuropathology of mild cognitive impairment. *Neuropathology* **27**, 578-584.
- [56] Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA (2009) The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol* **66**, 200-208.
- [57] Smith CD, Andersen AH, Kryscio RJ, Schmitt FA, Kindy MS, Blonder LX, Avison MJ (1999) Altered brain activation in cognitively intact individuals at high risk for Alzheimer's disease. *Neurology* **53**, 1391-1396.
- [58] Bartres-Faz D, Serra-Grabulosa JM, Sun FT, Sole-Padullés C, Rami L, Molinuevo JL, Bosch B, Mercader JM, Bargallo N, Falcon C, Vendrell P, Junque C, D'Esposito M (2008) Functional connectivity of the hippocampus in elderly with mild memory dysfunction carrying the APOE epsilon4 allele. *Neurobiol Aging* **29**, 1644-1653.



- [59] Gold BT, Jiang Y, Jicha GA, Smith CD (2010) Functional response in ventral temporal cortex differentiates mild cognitive impairment from normal aging. *Hum Brain Mapp* **31**, 1249-1259.
- [60] Persson J, Lustig C, Nelson JK, Reuter-Lorenz PA (2007) Age differences in deactivation: a link to cognitive control? *J Cogn Neurosci* **19**, 1021-1032.
- [61] Park DC, Polk TA, Hebrank AC, Jenkins LJ (2010) Age differences in default mode activity on easy and difficult spatial judgment tasks. *Front Hum Neurosci* **3**, 75.
- [62] Damoiseaux JS, Greicius MD (2009) Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Struct Funct* **213**, 525-533.
- [63] Lustig C, Snyder AZ, Bhakta M, O'Brien KC, McAvoy M, Raichle ME, Morris JC, Buckner R L (2003) Functional deactivations: change with age and dementia of the Alzheimer type. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 14504-14509.
- [64] Petrella JR, Prince SE, Wang L, Hellegers C, Doraiswamy PM (2007) Prognostic value of posteromedial cortex deactivation in mild cognitive impairment. *PLoS One* **2**, e1104.
- [65] Sorg C, Riedl V, Muhlau M, Calhoun VD, Eichele T, Laer L, Drzezga A, Forstl H, Kurz A, Zimmer C, Wohlschlagel AM (2007) Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 18760-18765.
- [66] Bai F, Zhang Z, Yu H, Shi Y, Yuan Y, Zhu W, Zhang X, Qian Y (2008) Default-mode network activity distinguishes amnesic type mild cognitive impairment from healthy aging: a combined structural and resting-state functional MRI study. *Neurosci Lett* **438**, 111-115.
- [67] Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, Sheline YI, Klunk WE, Mathis CA, Morris JC, Mintun MA (2005) Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci* **25**, 7709-7717.
- [68] Pengas G, Hodges JR, Watson P, Nestor PJ (2010) Focal posterior cingulate atrophy in incipient Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **31**, 25-33.
- [69] Chetelat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Eustache F, Baron JC (2003) Mild cognitive impairment: Can FDG-PET predict who is to rapidly convert to Alzheimer's disease? *Neurology* **60**, 1374-1377.
- [70] Anchisi D, Borroni B, Franceschi M, Kerrouche N, Kalbe E, Beuthien-Beumann B, Cappa S, Lenz O, Ludecke S, Marccone A, Mielke R, Ortelli P, Padovani A, Pelati O, Pupi A, Scarpini E, Weisenbach S, Herholz K, Salmon E, Holthoff V, Sorbi S, Fazio F, Perani D (2005) Heterogeneity of brain glucose metabolism in mild cognitive impairment and clinical progression to Alzheimer disease. *Arch Neurol* **62**, 1728-1733.
- [71] van den Heuvel M, Mandl R, Luigjes J, Hulshoff Pol H (2008) Microstructural organization of the cingulum tract and the level of default mode functional connectivity. *J Neurosci* **28**, 10844-10851.
- [72] Greicius MD, Supekar K, Menon V, Dougherty RF (2009) Resting-state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cereb Cortex* **19**, 72-78.
- [73] van den Heuvel MP, Mandl RC, Kahn RS, Hulshoff Pol HE (2009) Functionally linked resting-state networks reflect the underlying structural connectivity architecture of the human brain. *Hum Brain Mapp* **30**, 3127-3141.
- [74] Bosch B, Arenaza-Urquijo EM, Rami L, Sala-Llonch R, Junque C, Sole-Padullés C, Peña-Gómez C, Bargallo N, Molinuevo J L, Bartres-Faz D (2010) Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance. *Neurobiol Aging*, in press.
- [75] Fellgiebel A, Muller MJ, Wille P, Dellani PR, Scheurich A, Schmidt LG, Stoeter P (2005) Color-coded diffusion-tensor-imaging of posterior cingulate fiber tracts in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* **26**, 1193-1198.
- [76] Zhang Y, Schuff N, Jahng GH, Bayne W, Mori S, Schad L, Mueller S, Du AT, Kramer JH, Yaffe K, Chui H, Jagust WJ, Miller BL, Weiner MW (2007) Diffusion tensor imaging of cingulum fibers in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology* **68**, 13-19.
- [77] Bai F, Zhang Z, Watson DR, Yu H, Shi Y, Yuan Y, Qian Y, Jia J (2009) Abnormal integrity of association fiber tracts in amnesic mild cognitive impairment. *J Neurol Sci* **278**, 102-106.
- [78] Chua TC, Wen W, Chen X, Kochan N, Slavin MJ, Trollor JN, Brodaty H, Sachdev PS (2009) Diffusion tensor imaging of the posterior cingulate is a useful biomarker of mild cognitive impairment. *Am J Geriatr Psychiatry* **17**, 602-613.
- [79] Kiuchi K, Morikawa M, Taoka T, Nagashima T, Yamauchi T, Makinodan M, Norimoto K, Hashimoto K, Kosaka J, Inoue Y, Inoue M, Kichikawa K, Kishimoto T (2009) Abnormalities of the uncinate fasciculus and posterior cingulate fasciculus in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease: a diffusion tensor tractography study. *Brain Res* **1287**, 184-191.

## Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuo-perceptive network among a-MCI.

### Poster No:

388 WTh-PM

### Authors:

Roser Sala-Llloch<sup>1</sup>, Beatriz Bosch<sup>2</sup>, Eider M. Arenaza-Urquijo<sup>1</sup>, Lorena Rami<sup>3</sup>, Carme Junque<sup>1</sup>, Nuria Bargallo<sup>4</sup>, José-Luis Molinuevo<sup>3</sup>, David Bartrés-Faz<sup>1</sup>

### Institutions:

<sup>1</sup>University of Barcelona, Barcelona, Spain, <sup>2</sup>Hospital Clinic Barcelona, Barcelona, Spain, <sup>3</sup>Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain, <sup>4</sup>Centre de Diagnòstic per la Imatge (CDI), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

### Introduction:

Mild Cognitive Impairment (MCI) defines a transitional state between normal ageing and dementia, thus, it may be considered as a prodromal stage of Alzheimer's disease, especially in its amnesic form (aMCI). Cognitive Reserve (CR) reflects the capacity of the brain to endure age-related changes and/or neuropathology to minimize clinical manifestations (Stern, 2009). In previous studies, CR has been shown to modulate brain function and structure among MCI during cognitive performance, albeit using separate analyses (Bosch et al., 2009; Solé-Padullés et al., 2009). We integrated both functional and structural MRI data to investigate the impact of CR in a defined visuo-perceptive network in a group of a-MCI subjects. According to the predictions of the CR theory and our previous findings, we hypothesized that MCI patients with higher levels of CR would be able to exhibit functional compensations in the context of structural evidences reflecting a more advanced neurodegenerative process.

### Methods:

Fifteen a-MCI patients participated in the study. Participants underwent an extensive clinical and psychological evaluation, reporting memory complaints and scoring below -1.5 SD on an episodic memory test, with no affectation of other cognitive domains. Evaluation of CR included three proxies: the Vocabulary subtest of the WAIS-III, administered as a measure of premorbid IQ, an "education-occupation" variable, and lifetime occupations, physical and social life. Neuroimaging protocol included a T1-weighted structural MRI (T1-MRI), a Diffusion Weighted MRI (DWI), and a functional MRI (fMRI). During fMRI, subjects were asked to perform a block-designed visual task consisting on the identification of blurred images. Image analyses were performed using FSL tools. First, Independent Component Analysis (ICA) of fMRI data allowed to obtain the main task related functional network of activations and deactivations during the performance of the task, from which cortical patterns were extracted. Therefore, these cortical patterns were used to measure ROI-gray matter volumes (from T1-MRI), and to obtain a measure of white matter tract integrity of network-related tracts, using seed-based probabilistic tractography on DWI data. Regression analyses were later performed between all the obtained individual measures.

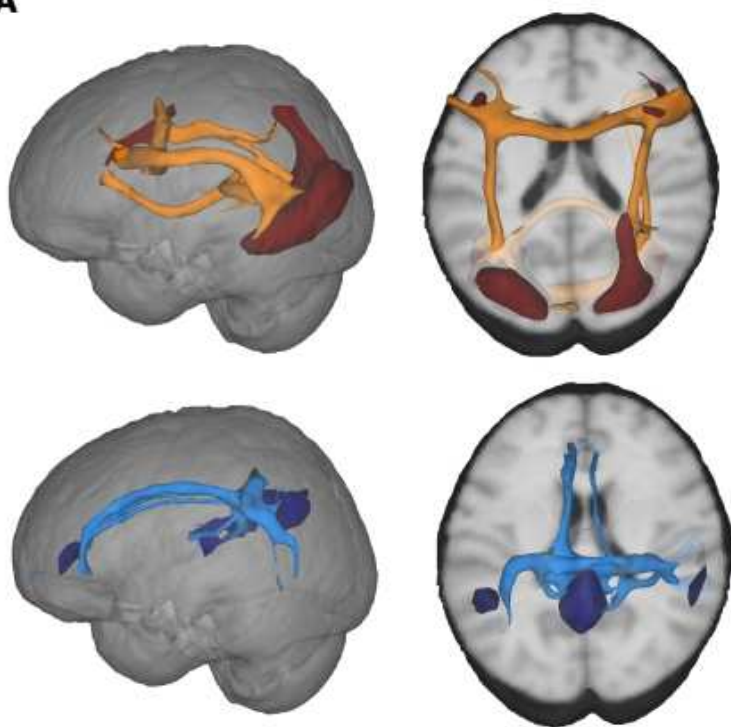
### Results:

All participants performed within normal range in the visuo-perceptive task, indicating no clinical impairment. The identified task-related network from the ICA decomposition showed a highly strong concordance with the task time-series in the time domain. Its spatial map included both activated (Activation Task Related Pattern, ATRP) and deactivated brain regions (Deactivation Task Related Pattern, DTRP) during the task performance. The ATRP (figure 1A, upper half) was conformed bilaterally by occipitotemporal areas and to a lesser extent, inferior and middle frontal and inferior parietal regions. The spatial extension of the DTRP (figure 1A, lower half) had a high coincidence to the well-defined Default Mode Network (DMN) (Buckner, 2008). Regarding relationships between functional and structural measures, we found that fMRI activation strength (i.e. BOLD signal) of the cortical network was negatively correlated with gray matter volumes of regions related with the DTRP (but not those from ATRP). Finally and considering the impact of Cognitive Reserve, patients with higher scores showed increased fMRI activation strength and reduced tract integrity of the identified task-related pathways (Figure 1B).

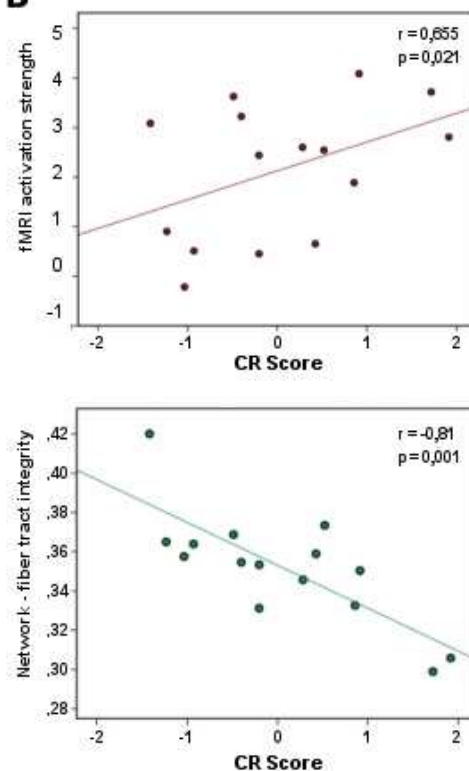
### Conclusions:

The present study integrating distinct MRI modalities (fMRI, volumetry and DTI) evidences that functional reorganizations among a-MCI exist, even when considering a clinically unaffected cognitive domain. Particularly, those patients with greater GM atrophy in areas of the DMN showed fMRI activation strength possibly reflecting compensatory functional mechanisms for a more affected structure. Part of these compensatory responses appeared to be modulated in fact by Cognitive Reserve, as patients with higher CR scores showed decreased WM integrity in the pathways of this network together with more robust fMRI responses. Present results, specifically isolating a cognitive network from a neuroimaging point of view among MCI, are in accordance with previous evidences indicating that in the preclinical stages of dementia, CR acts providing additional functional brain resources that are used to cope with more advanced degree of structural brain damage.

**A**



**B**



**References:**

Bosch, B. (2009), 'Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease', *Cortex*, vol. May 20. [Epub ahead of print].

Buckner, RL. (2008), 'The brain's default network. Anatomy, function, and relevance to disease.', *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1124, pp. 1-38.

Solé-Padullés, C. (2009), 'Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease', *Neurobiology of Aging*, vol. 30, no. 7, pp. 1114-24.

Stern, Y. (2009), 'Cognitive Reserve', *Neuropsychologia*, vol. 47, no. 10, pp. 2015-28.

**Disorders of the Nervous System**

Alzheimer and Dementia

## 5.- DISCUSIÓN GENERAL

## 5. DISCUSIÓN GENERAL

La presente tesis está dirigida a investigar los correlatos neuroanatómicos y neurofuncionales de la reserva cognitiva o cerebral en CTR, DCL-a y EA, para ello diseñamos una serie de estudios clínicos con medidas de resonancia estructural y funcional.

En el primer estudio se describen las áreas que experimentan cambio en la AF tanto en el envejecimiento fisiológico como en el patológico, así como los cambios específicos a los distintos índices de SB (AF, DA, DR y DM).

En este sentido se evidencia un decremento de AF en áreas posteriores en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve. Estos hallazgos aportan más pruebas a las observaciones recientes con metodologías de procesamiento de datos de DTI equivalentes (Acosta-Cabronero y col., 2009; Damoiseaux y col., 2009; Salat y col., 2010; Stricker y col., 2009). En particular, destacar el compromiso del fascículo uncinado en pacientes con EA, de acuerdo con trabajos basados en TBBS (Damoiseaux y col., 2009, ver los resultados sin corregir TBSS de Liu y col., 2009), tractografía (Kiuchi y col., 2009), y estudios con ROIs (al Taoka y col., 2006; Yasmin y col., 2008). Este fascículo es un haz cortico-cortical que conecta el lóbulo temporal anterior y frontal inferior (Ebeling y Von Cramon, 1992; Petrides y Pandya, 1988; Ungerleider y col., 1989), y su afectación probablemente refleja la implicación crítica del lóbulo temporal en la patología de la EA (Hanyu y col., 1998). Interesantemente, la mayoría de regiones que muestran reducción de AF corresponden con áreas donde se incrementa la DR y la DM, mientras los cambios de difusividad en DA son menos prominentes y más específicos para esta patología. (EA).

De acuerdo con un estudio previo utilizando el mismo enfoque de voxel a voxel en pacientes con DCL-a (Damoiseaux y col., 2009), no encontramos diferencias regionales en comparación con los ancianos sanos o pacientes con EA al considerar el índice de AF como una 'medida resumen' de integridad de sustancia blanca. No obstante, fue posible identificar reducción de valores medios de AF en el DCL-a en las mismas regiones donde los pacientes con EA presentan disminución de AF, en la línea de los estudios anteriores (Bai y col., 2009; Fellgiebel y col., 2005; Medina y col., 2006; Rose y col., 2006; Wang y col., 2009; Zhang y col., 2007), sugiriendo un compromiso incipiente de tractos de SB en regiones posteriores críticas en la EA. Estos hallazgos se confirman, también, con el análisis global de todo el cerebro estudiando la difusividad radial, donde se observan incrementos significativos de DR en

pacientes con DCL-a en clara correspondencia anatómica con regiones dónde también hubo incremento de DR en EA.

Estos resultados, revelan un compromiso específico de los distintos índices de DTI en DCL-a y EA (Huang y col., 2007; Salat y col., 2010) y sugieren que la mayoría de los cambios probablemente están directamente relacionados con la atrofia subyacente de SG. Cabe destacar, sin embargo, que las únicas diferencias de difusión que prevalecen ajustando por atrofia de SG son los cambios de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en partes posteriores del fascículo inferior frontooccipital y longitudinal en DCL-a, que puede reflejar compromiso incipiente de SB en estos pacientes predementes.

La interpretación de estos datos de difusión es compleja, especialmente en las regiones que muestran cambios en los diferentes índices en los que no está del todo claro si es el mismo mecanismo el que subyace a estos cambios. Sin embargo, con base en la literatura previa, hay posiblemente dos principales mecanismos que explican los resultados de DTI en el envejecimiento y en la demencia. En primer lugar, los cambios de SB pueden estar directamente relacionados con el proceso neurodegenerativo. Esta posibilidad sugiere daño axonal relacionado con la degeneración Walleriana como el supuesto mecanismo primario de cambio de SB en la EA (Alexander y col., 2007; Basser y Pierpaoli., 1996; Beaulieu, 2002; Chalmers y col., 2005; Damoiseaux y col., 2009; Davis y col., 2009; Duan y col., 2006; Fellgiebel y col., 2008; Harsan y col., 2006; Huang y Auchus., 2007; Smith y col., 2007; Song y col., 2005; Xie y col., 2006; Zhang y col., 2007, 2008). En segundo lugar, el daño de mielina es un factor que contribuye a la patología de ambos, en envejecimiento normal y en la EA, incluida la fase preclínica de la enfermedad (Bartzokis, 2004), y se ha relacionado con la oligomerización de A $\beta$  (Bartzokis et al., 2007). En este sentido, se ha propuesto la vaina de mielina como lugar de la lesión primaria en el envejecimiento normal y los pacientes con demencia (Wallin et al. 1989). El concepto que predominantemente explica el proceso de mielinización comprometido en la EA es el modelo de retrogenes, donde las fibras de asociación de sustancia blanca, mielinizadas en último lugar, son las más comprometidas en estadios iniciales de la demencia, en comparación con las primeras fibras mielinizadas (Stricker y col., 2009).

Nuestros resultados apoyan claramente que los cambios SB observados en los pacientes están íntimamente relacionados con la atrofia cerebral. Cabe destacar, sin embargo, el hecho de que la SB esté comprometida principalmete en áreas de asociación (es decir, unciforme), límbicas (cíngulo) y en las vías comisurales (rodete del cuerpo calloso), de acuerdo

con la topografía predicha por la hipótesis de la retrogenes, puede reflejar compromiso incipiente de SB, en estos pacientes, apoyando este modelo.

En general, estas observaciones, sugieren la posible coexistencia de daño relacionado con un compromiso de mielina junto con daño axonal principalmente secundario a la atrofia de estructuras temporales.

Parece que en fases prodrómicas de demencia la información suministrada por los mapas de DR puede ser útil para diferenciar el compromiso de SB en regiones posteriores no relacionadas con atrofia de SG, proporcionando información sobre alteraciones de AF en el curso de la enfermedad.

Además, en este estudio, restringiendo los análisis a los grupos de pacientes, únicamente los valores de AF mostraron relación significativa con la 'ejecución de la memoria', evidenciando que el daño microestructural de SB reflejado con el índice de AF presenta una buena correspondencia con los síntomas cognitivos predominantes de estos pacientes. Además, se observan correlaciones negativas no significativas estadísticamente, pero en la dirección esperada, para los valores de DM. Estudios previos, centrándose principalmente en la AF y en la DM en envejecimiento normal (Charlton y col., 2006; Grieve, y col., 2007; Schiavone y col., 2009; Sullivan y col., 2008; Zahr y col., 2009) en el DCL y en poblaciones de pacientes con EA (Bai y col., 2009; Fellgiebel y col., 2005, 2008, Huang y Auchus de 2007, Rose y col., 2006; Xie y col., 2005; Walhovd y col., 2009) mostraron asociaciones en la misma dirección (positivas y negativas para la AF y la DM) con el rendimiento cognitivo.

Así los hallazgos muestran que las medidas globales, reflejadas por índices que integran diversa información, anisotropía fraccional (AF) y difusividad media (DM), parecen estar más estrechamente relacionadas con el perfil cognitivo de nuestros pacientes que los índices que reflejan el movimiento del agua en paralelo (DA) y perpendicular (DR) a la dirección de la difusión primaria.

A continuación, en el estudio II investigamos la relación entre las variables de RC y la integridad de la SB en CTR, DCL-a y EA. Para ello en primer lugar estudiamos el patrón de cambios de AF que se da en la edad avanzada y en el deterioro cognitivo, partiendo de las áreas de cambio de AF en envejecimiento patológico identificadas en el estudio I. Esta vez añadiendo un grupo de sujetos sanos jóvenes, que permitieron aislar las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano. Se objetiva que la integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se

caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, en el hemisferio derecho, así como en el genum del cuerpo callosos, en el cíngulo y en los fascículos longitudinales superior e inferior mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores, principalmente en áreas del hemisferio posterior izquierdo, del fascículo uncinado y de los haces frontocipitales y cíngulo. La media de los valores de AF para el grupo de pacientes con DCL-a también fue inferior que en los ancianos sanos sugiriendo daño incipiente de SB.

Una vez caracterizadas las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano y patológico estudiamos si existía relación entre la integridad e la sustancia blanca y la RC. Hasta dónde sabemos, nuestro estudio proporciona la primera evidencia de asociación entre integridad de SB y variables de RC en una muestra de sujetos sanos y patológicos.

En ancianos sanos, los primeros estudios de correlación entre estructura cerebral y variables de RC encontraron resultados inconsistentes, tanto positivos (Solé-Padullés y col., 2009; Colcombe y col., 2003; Gordon y col., 2008; Teipel y col., 2009; Bartrés-Faz y col., 2009; Valenzuela y col., 2008) como negativos (Nebes y col., 2006; Querbes y col., 2009). Nuestro estudio corrobora los hallazgos de éstos últimos trabajos, mostrando asociaciones inversas entre la RC y los parámetros estructurales derivados de la RM, específicamente en la microestructura de SB.

En términos de la RC, se interpreta que asociaciones positivas entre RC y mediciones morfométricas podrían reflejar un efecto 'neuroprotector' de la RC mediado por varios mecanismos neurorestauradores a nivel molecular y celular (Valenzuela y col., 2008). Por el contrario, las asociaciones negativas observadas en varios estudios, como el nuestro, probablemente reflejen que los individuos con altos índices de RC pueden tolerar mayor grado de carga cerebral, relacionada con la edad, en áreas específicas del cerebro, mientras que a la vez permite mantener de forma óptima la capacidad cognitiva o funcional, sugiriendo un aumento de recursos compensatorios.

Igualmente estudiamos si existe una especificidad anatómica para la asociación entre RC y SB en zonas que presentan compromiso relacionado con la edad, así como en regiones que se dan cambios patológicos. Se utiliza este enfoque en base a nuestros resultados previos, donde las correlaciones de la RC con la funcionalidad cerebral se identifican mayoritariamente en regiones que están alteradas en la EA incipiente (Solé-Padullés y col., 2009) y en zonas que reflejan cambios típicos de la edad en sujetos sanos (Bartrés-Faz y col., 2009).



Se evidencia que esta asociación se implementa en distintas regiones cerebrales según se considere envejecimiento sano o patológico. Los sujetos control mostraron una correlación más negativa entre RC e integridad de SB que DCL-a y EA. Así, la influencia de la RC, en envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma fisiológica con la edad, proporcionando mayor capacidad para tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, mientras que en los pacientes con DCL-a la misma asociación negativa se observa en regiones con afectación patológica, sugiriendo mayor resistencia a la manifestación clínica de la patología.

Realizamos el seguimiento a dos años de los pacientes con DCL-a, y aunque los resultados longitudinales deben ser interpretados con precaución debido a la reducida muestra de pacientes con DCL-a, encontramos que todos los pacientes que convirtieron a EA obtuvieron puntuaciones elevadas de RC, lo que sugiere un vínculo entre la integridad de SB (máxima en pacientes con alta RC) y el riesgo de progresión a EA. En el DCL-a la asociación entre RC y integridad de SB puede reflejar una mayor capacidad para hacer frente a daño cerebral incipiente. Conceptualmente, estas observaciones recuerdan la teoría del umbral crítico de vulnerabilidad del cerebro, que podría prolongar la fase 'prodrómica' en pacientes con altos valores de RC hasta que llega a un determinado nivel de patología cerebral (Satz,1993). Cuando se sobrepasa el umbral, la vulnerabilidad al daño cerebral parece ser inevitable y aparecen los déficits clínicos y funcionales, lo que representa un avance más rápido de la demencia en estos pacientes (Scarmeas y col., 2003).

Los hallazgos de los dos estudios previos abordan alteraciones estructurales en sujetos sanos y fases prodrómicas e iniciales de la demencia y la relación con la RC. Sin embargo, son conocidos los correlatos neurofuncionales de la RC. Normalmente se han estudiado las relaciones entre las variables de RC y la activación cerebral durante la realización de tareas de memoria, recientemente en otras funciones cognitivas y en reposo. Además de los déficits estructurales es sabido que los pacientes con DCL-a y EA presentan déficits funcionales que junto con los anteriores influyen en la cognición.

Así, nuestro interés de investigación no se reduce a la relación de la RC con los cambios estructurales del cerebro. Por ello en el estudio III se plantea investigar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de comprensión del lenguaje de tipo pasivo, preservada en los pacientes con DCL-a y EA en fase inicial.

Si bien, tanto los pacientes como los controles mostraron una ejecución similar en la prueba de comprensión del lenguaje durante la exploración neuropsicológica, durante la ejecución de la tarea dentro de la RM, en los pacientes se observó una correlación positiva entre las medidas de RC y la respuesta BOLD en áreas directamente implicadas en el procesamiento del lenguaje, así como una mayor desactivación en regiones de la DMN. Tanto los DCL-a como los pacientes con EA, mostraron una correlación negativa entre RC y actividad cerebral en áreas de desactivación inducidas por la tarea. Conociendo que, la actividad de los procesos que se dan en el resting-state es especialmente evidente durante la realización de una tarea de alta demanda cognitiva, es posible hipotetizar que la tarea cognitiva utilizada aquí es más desafiante para los pacientes con alta RC. Así, tanto los incrementos en las activaciones y las desactivaciones inducidas por la tarea, podrían reflejar una mayor capacidad de reasignación de recursos. Hallazgos previos en sujetos sanos (Daselaar y col., 2004; Rombouts y col., 2005; Persson y col., 2007; Andrews-Hanna y col., 2007) y en pacientes con DCL-a y pacientes con EA (Celone y col., 2006) evidenciaron que mayores desactivaciones en áreas de la DMN estaban relacionadas con mejor rendimiento cognitivo.

A pesar de ser medidas indirectas, estas asociaciones entre cambios de actividad cerebral relacionada con la RC y el rendimiento en la comprensión del lenguaje, indican, de nuevo, una reorganización funcional cerebral temprana y aumento de los recursos compensatorios en pacientes con alta RC.

Los hallazgos de este estudio proporcionan evidencia de que las reorganizaciones neurofuncionales relacionadas con la RC en DCL-a y en los pacientes con EA se pueden ver incluso si se considera un dominio clínicamente no afectado a nivel cognitivo, es decir, en las primeras etapas de la disfunción cognitiva de la EA incipiente y en el DCL-a.

Estas relaciones se invirtieron en sujetos sanos. Para estos sujetos, una alta RC se relacionó con una reducción de la actividad en áreas implicadas en el procesamiento de comprensión lingüística. Estos resultados sugieren un incremento de la eficiencia neural (Stern, 2007) reduciendo así, el número de áreas cerebrales implicadas. Estos resultados muestran coherencia con las recientes observaciones de nuestro grupo en muestras independientes y en tareas cognitivas más complejas (Solé-Padullés y col., 2009; Bartrés-Faz y col., 2009), y evidencian que la implementación neurofuncional de la reserva cognitiva ya está también trabajando en demandas cognitivas de baja exigencia.

Igualmente, en sujetos sanos, una alta RC se relaciona con menos desactivaciones del DMN. Basándonos en la literatura previa (Grecius y col., 2003, 2004), el hecho de que los

pacientes sanos con alta RC muestren una menor suspensión de la DMN, reflejaría que en este grupo con recursos funcionales más eficientes, la tarea fue procesada más automáticamente o con más facilidad. En resumen, para los sujetos sanos, el incremento de la eficiencia neural fue asociada con RC como se revela en la RMf, pareciendo incluir tanto un menor reclutamiento de áreas de activación, como una reducida supresión de la DMN.

Así, siguiendo en la línea de nuestros resultados previos, en los que encontrábamos que personas con altos índices de RC presentan una mayor eficacia en el uso de los circuitos cerebrales ante demandas cognitivas tanto ante tareas de aprendizaje (Solé-Padullés y col., 2009), como durante el procesamiento de memoria de trabajo (Bartrés-Faz y col., 2009), incluyendo los casos con EA leve en el caso del aprendizaje, en el III estudio, se evidencia que la RC modula no sólo los patrones de activación cerebral, sino también las regiones que presentan desactivaciones durante tareas cognitivas, específicamente las áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto' (default network of brain activity). En concreto, los pacientes con EA y alta RC presentan mayores desactivaciones de estas áreas sugiriendo un funcionamiento cerebral más próximo a la normalidad, ya que un déficit en su desactivación incrementa el riesgo de padecer enfermedad (Buckner y col., 2008).

Cabe señalar, sin embargo, que no se pudo demostrar que esta reorganización funcional y uso más efectivo de las redes cerebrales se relacionara con aumento de atrofia cerebral (medido por volumen de SG). Estos hallazgos son inesperados y contraintuitivos respecto a la hipótesis de RC, la cual, predice que las compensaciones funcionales en pacientes con EA son un resultado de un mayor daño cerebral.

En un estudio previo del grupo (Solé-Padullés y col., 2009) observamos que los pacientes con EA con mayor RC mostraban un incremento de la actividad cerebral durante una tarea de memoria episódica, junto con un mayor nivel de atrofia. Sin embargo, cuando en este tercer estudio utilizamos un análisis de regresión múltiple, se evidenció que los cambios en la RMf estaban más íntimamente relacionados con medidas de RC que con atrofia cerebral, procurando así, soporte para el modelo activo de la RC (Stern, 2002). Estos resultados, en los que se ha utilizado un corregistro más definido vóxel a vóxel entre RMf y valores de sustancia gris, refuerzan la idea de que las reorganizaciones funcionales relativas a la RC están implementadas más allá de las diferencias estructurales, incluso en estadios tempranos de deterioro cognitivo y enfermedad de Alzheimer. Es posible que, la tarea de baja demanda cognitiva y/o el hecho de que evaluemos un dominio cognitivo no afectado excluya la posibilidad de identificar asociaciones función/estructura. De forma alternativa, la atrofia de

sustancia gris podría no ser el correlato estructural cerebral más sensible asociado con las reorganizaciones funcionales observadas. Hallazgos recientes, utilizando resting-state en RMf (Andrews-Hanna y col., 2007) y desactivaciones inducidas por la tarea (Greicius y col., 2009) demuestran que las interrupciones de la DMN están asociadas con la integridad de la sustancia blanca, como ha sido revelado con el análisis por tensor de difusión. Además, las medidas de volumen cerebral de materia gris (Damoiseaux y col., 2008) o la patología típica de EA observada con PIB-PET (Andrews-Hanna y col., 2007) no modificaban las diferencias entre sujetos jóvenes y ancianos en redes de reposo cerebral.

Con todo esto, los previos y actuales resultados, en los que la relación entre la SB y la RC está explicando parte de la capacidad para afrontar daño en el envejecimiento normal y patológico y que la función cerebral también es sensible para reflejar diferencias individuales en función de la RC, dejan entrever la necesidad de realizar más estudios para investigar el rol preciso de la integridad de los tractos de sustancia blanca como un correlato morfológico más sensible correlacionado con la RC y sus relaciones con cambios funcionales en sujetos sanos y pacientes.

Así, en base a los hallazgos previos, por último, en el estudio IV realizamos un estudio multimodal (mediante resonancia magnética estructural, funcional y de difusión) en el que caracterizamos las redes funcionales y estructurales implicadas en una tarea de procesamiento visual complejo, en pacientes con DCL-a y CTR. Para realizar este análisis integral examinamos la conectividad funcional, la volumetría de la SG así como la tractografía probabilística de la SB. Además, estudiamos la implementación de la RC en estas redes aisladas para esta tarea clínicamente preservada en los dos grupos.

El interés por el estudio de esta red cognitiva surge a partir de los estudios previos que se encuentran en la literatura y describen que el estudio de áreas visuales en este grupo de pacientes aporta información relevante acerca de la progresión clínica hacia la enfermedad de Alzheimer (Vannini y col., 2007).

El análisis de los componentes de las imágenes de RMf identificó dos redes anatomofuncionales en el componente principal relacionadas con la tarea: una red que constituye el patrón de activación y una red relacionada con el patrón de desactivación de regiones cerebrales. La activación (ATRP) correspondía principalmente a áreas parietales, temporales y occipitales y en menor medida a regiones frontales.

En general este patrón de activación se corresponden con los hallazgos descritos en estudios realizados con PET y RMF en los que se estudia la actividad cerebral asociada al reconocimiento de caras y objetos, localización espacial (Haxby y col., 1991 y 1994; Clarl y col., 1996; Grill-Spector, 2003) y atención visuoespacial (Corbetta y col., 1993). Por lo tanto, el análisis topográfico de la red de ATRP sugiere que nuestra tarea incorpora componentes visuoperceptivos del sistema visual ventral (identificación de imágenes borrosas) y del sistema visual dorsal (seleccionar una imagen en una posición determinada en el espacio), así como áreas de integración para la información visual ya que la corteza prefrontal también está implicada en la tarea, corroborando los hallazgos de Bokde y col., (2006) y Vannini y col., (2007) en pacientes con DCL en tareas visuoperceptivas y visuoespaciales respectivamente.

El análisis probabilístico de tractografía describe la implicación del fascículo longitudinal superior dorsal bilateral y del fascículo longitudinal inferior y ventral fronto-occipital, sólo en el hemisferio derecho, para la tarea de activación sugiriendo que la tarea implica más regiones dorsales que ventrales. En general, la identificación de estos tractos principales corrobora los resultados de un estudio reciente realizado en sujetos jóvenes sanos, en el que identificaron las vías de SB basándose en las activaciones de RMf durante la realización de una tarea de atención visuoespacial (Umarova y col., 2009 y 2010).

La tarea también estaba relacionada con la activación de ciertas regiones cerebrales, durante el 'patrón de activación por reposo', que coincidían con regiones implicadas en la red conocida como *default network* (Buckner, y col., 2008).

En las comparaciones grupales para la red de activación los pacientes con DCL-a mostraron una mayor activación en áreas ventrales-occipitales inferiores implicadas en la tarea visual en comparación con los controles, lo que podría ser considerado como un mecanismo de compensación para poder ejecutar la tarea adecuadamente y suplir la incipiente disfunción del circuito de procesamiento visual (áreas dorsales más comprometidas). Sin embargo, no se observaron diferencias de SB y SG dentro de la red de ATRP para este grupo. Estos resultados están en la línea de trabajos previos de RMf en los que se mostraba que la reorganización funcional parece ser anterior a la marcada atrofia cerebral detectable por RM, un hallazgo que se ha demostrado en estudios de población en riesgo de demencia (Smith y col., 1999; Bookheimer y col., 2000; Bartrés-Faz y col., 2008). Así, aunque el estudio demuestra que los pacientes con DCL-a reclutan un patrón de activación funcional que se diferencia al de los controles, estos cambios funcionales no parecen corresponder al daño de regiones estructural de la red.

Por otro lado, los pacientes no sólo mostraban anormalidades funcionales en algunas regiones corticales del sistema visual sino que también mostraron una desactivación menor de áreas posteromediales que los controles en áreas implicadas en el 'default mode network'. Además, a partir del análisis de la información aportada por la RMf pudimos observar atrofia cortical en el córtex cingulado posterior/precuneus como sustrato anatómico de los déficit de desactivación, junto con una excesiva desactivación del lóbulo parietal inferior y compromiso de la SB en la corteza cingulada (calloso), una vía identificada como una de las principales en la red estructural de la DMN en estudios anteriores, de acuerdo con los hallazgos de Qi y col., (2010), que reportaron las zonas de mayor señal en las regiones parietales en el contexto de la reducción de la actividad del PCC, y también son comparables con los de Bai y col., (2008).

Destacar que, aunque los pacientes presentaban mayor activación de redes funcionales implicadas en la tarea y reducida desactivación de la red, que se supone que debería permanecer suspendida durante la ejecución de dicha tarea, los pacientes con DCL-a mostraron un desempeño de la tarea parecido al de los controles. Los hallazgos permiten la identificación de reorganizaciones funcionales en la red cortical relacionada con la tarea en los DCL-a, tanto para las activaciones como para las desactivaciones, incluso cuando se considera un dominio cognitivo clínicamente preservado. Además, en las áreas implicadas en la red los pacientes muestran mayor afectación de SG junto con afectación de SB únicamente en áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto' (DTRP).

Las reorganizaciones funcionales que se observan en pacientes con DCL-a se interpretan como mecanismo de compensación ante afectación estructural. Parte de esta respuesta compensatoria parece estar modulada por la Reserva Cognitiva, ya que los pacientes con puntuaciones más altas de RC mostraron mayor alteración de la integridad de SB en los tractos implicados en la red funcional evaluada, junto con respuestas de RMf más sólidas, lo que sugiere, de nuevo, que la RC modula la actividad cerebral funcional para compensar los déficit estructurales que sirven de fundamento anatómico a la red de procesamiento visual complejo. Así, en fases prodrómicas de la demencia altos índices de RC aportan más recursos funcionales al cerebro que se utilizan para hacer frente a daño estructural más avanzado.

En resumen, el aumento de la RC estaba relacionado con un volumen cerebral mayor y menor actividad durante el procesamiento cognitivo en los ancianos sanos, lo que sugiere un uso más eficaz de las redes cerebrales. Sin embargo, el aumento de la RC se asoció con un volumen cerebral reducido y daño en la sustancia blanca en DCL-a lo que interpretamos como un estadio neuropatológico más avanzado. El funcionamiento cognitivo en estos sujetos con RC más elevada se puede explicar por mecanismos de compensación tanto estructurales

(reflejados en el volumen cerebral) como funcionales (reflejados en la RM funcional en los estudios de activación y en reposo, evaluando áreas cognitivas clínicamente preservadas).

Este estudio además de permitir la identificación de reorganizaciones funcionales en la red cortical directamente relacionada con la tarea y la influencia de la RC, confirma hallazgos previos que indican que la investigación sobre el sistema visual utilizando RMf proporciona información relevante que refleja cambios tempranos en esta condición. Es importante remarcar que amplía los conocimientos previos ya que demuestra una disfunción cerebral, principalmente de vías dorsales reflejada por mecanismos compensatorios, en etapas en las que las funciones visuoperceptivas y visuoespaciales no están comprometidas clínicamente. Esta última observación refuerza la idea de que la RMf puede considerarse como un potencial marcador biológico de EA prodrómica.

También se detectó alteración funcional del DMN en áreas posteromediales, así como atrofia cortical del sustrato anatómico de estas zonas de desactivación. Igualmente, se observó compromiso de la sustancia blanca en el cíngulo. Estos resultados resaltan la importancia de realizar estudios multimodales de redes neuronales, integrando información de RMf, atrofia cortical e integridad de SB en DCL-a para detectar alteraciones incipientes (sobretudo en el 'patrón de reposo por defecto' o DMN). Por último, también es interesante observar, a nivel práctico, que la adaptación de la tarea cognitiva a la máquina de RMf y un enfoque multimodal permiten investigar el estado funcional y estructural de las principales redes relevantes del cerebro en fases prodrómica de la EA y reducir los problemas comunes asociados con tareas complejas tales como los niveles de ejecución muy pobre, o la incapacidad de comprender o realizar la tarea en una proporción de los pacientes.

## 6.- CONCLUSIONES



## 6.- CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de esta tesis, derivadas de los 4 estudios, se pueden resumir de la siguiente manera:

### CONCLUSIONES ESTUDIO I:

- La utilización de distintos índices de DTI permite identificar un patrón topográfico característicos de EA y DCL-a, en regiones posteriores, distinto al del envejecimiento sano.
- La mayoría de cambios están directamente relacionados con la atrofia subyacente de sustancia gris. Sin embargo, el incremento de señal de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en DCL-a, puede reflejar compromiso incipiente de SB en estos pacientes predementes, que es independiente de la atrofia de SG. Por la cual cosa señalan cambios intrínsecos de la SB en estas condiciones. Por lo tanto, los datos no solo confirman la hipótesis retrógrada sino también la desmielinización.
- Por último, las medidas globales reflejadas por índices que integran diversa información, AF y DM, parecen estar más estrechamente relacionada con el perfil cognitivo de nuestros pacientes que los índices que reflejan el movimiento de agua en paralelo (DA) y perpendicular (DR) a la dirección de difusión primaria.

### CONCLUSIONES ESTUDIO II:

- La integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores.
- Los valores de reserva cognitiva están relacionados con la integridad de la SB. En el envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma fisiológica con la edad, proporcionando mayor capacidad para tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, mientras que en los pacientes con DCL-a la asociación se observa en regiones con afectación patológica, sugiriendo mayor resistencia a la manifestación clínica de la patología.
- Los sujetos con DCL y altas puntuaciones de RC presentan mayor riesgo de desarrollar EA durante un periodo de dos años de seguimiento, lo cual sugiere que el proceso neuropatológico está más avanzado.

### **CONCLUSIONES ESTUDIO III:**

- Los índices de RC modulan las activaciones y desactivaciones cerebrales, y de modo opuesto al considerar ancianos vs pacientes, incluso cuando no hay evidencia de una relación entre la atrofia cerebral y la RC.
- Las reorganizaciones funcionales relacionadas con los índices de RC en los pacientes con DCL-a y EA respecto controles se observa incluso cuando se está considerando un dominio cognitivo clínicamente no afectado.
- Las reorganizaciones funcionales relacionadas con los índices de RC reflejan mecanismos de compensación.

### **CONCLUSIONES ESTUDIO IV:**

- Existen reorganizaciones funcionales en la red cortical visuoperceptiva en sujetos con DCL-a, tanto para las activaciones como para las desactivaciones. Además, existe una afectación de SG en las áreas implicadas en la red, mientras que la SB se afecta únicamente en las áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto'.
- Los estudios multimodales de redes neuronales, integrando información de RMf, atrofia cortical y integridad de SB, en DCL permiten detectar alteraciones incipientes, sobretodo en el 'patrón de reposo por defecto'.
- En fases prodrómicas de la demencia altos índices de RC aportan más recursos funcionales al cerebro que se utilizan para hacer frente a daño estructural más avanzado.

## **CONCLUSIÓN GENERAL:**

Los estudios descritos en esta tesis aportan evidencia de que el nivel de implicación a lo largo de la vida en actividades de tipo mental o intelectual, social y físico modula la estructura y función del cerebro.

En el envejecimiento sano, altos índices de RC, volumétricamente, se asocian con un cerebro más preservado, ya que existe una mayor preservación de la integridad de la SB. La alta RC también parece relacionarse con una mayor capacidad de tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, sin que esto implique menor función cognitiva. Funcionalmente, se asocian con la utilización de menos recursos cerebrales durante el procesamiento de tareas cognitivas de comprensión lingüística y percepción visual compleja.

En la patología, altos índices de RC se asocian con una mayor atrofia cerebral y daño en la sustancia blanca, probablemente sugiriendo una mayor resistencia a la manifestación clínica en estos pacientes con un mayor grado de neuropatología. Funcionalmente, correlacionan positivamente con la intensidad de activaciones y negativamente con las desactivaciones del DMN durante el procesamiento cognitivo, sugiriendo una necesidad de sobreesforzar los recursos funcionales cerebrales para compensar un mayor daño estructural.

Altos índices de RC permite a los pacientes con DCL-a el uso de redes cerebrales alternativas, como mecanismo de compensación, para seguir rindiendo a un determinado nivel clínico y cognitivo a pesar de un proceso patológico subyacente.

En definitiva, el concepto de RC permite explicar la resistencia y compensación que muestran algunos cerebros a manifestar clínicamente un proceso patológico subyacente.

## 7.- REFERENCIAS

## 7.- REFERENCIAS

Acosta-Cabronero J, Williams GB, Pengas G, Nestor PJ. Absolute diffusivities define the landscape of white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Brain*. 2009; 13. [Epub ahead of print].

Alexander AL, Lee JE, Lazar M, Field AS. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics*. 2007; 4: 316-329.

Andrews-Hanna JR, Snyder AZ, Vincent JL, Lustig C, Head D, Raichle MC and Buckner RL. Disruption of large-scale brain systems in advanced aging. *Neuron*, doi 10.1016/j.neuron.2007.10.038, 2007.

Arkin S. Memory training in early Alzheimer's disease: an optimistic look at the field. *Am J Alzheimer's care and related Disorders and Research*. 1991; 6: 17-25.

Bai F, Zhang Z, Yu H, Shi Y, Yuan Y, Zhu W, Zhang X, Qian Y. Default-mode network activity distinguishes amnesic type mild cognitive impairment from healthy aging: a combined structural and resting-state functional MRI study. *Neurosci.Lett* 2008; 438: 111-115.

Bartres-Faz D, Serra-Grabulosa J M, Sun F T, Sole-Padullés C, Rami L, Molinuevo J L, Bosch B, Mercader J M, Bargallo N, Falcon C, Vendrell P, Junque C, D'Esposito M. Functional connectivity of the hippocampus in elderly with mild memory dysfunction carrying the APOE epsilon4 allele. *Neurobiol.Aging*. 2008; 29: 1644-1653.

Bartres-Faz D, Solé-Padullés C, Junqué C Rami L, Bosch B, Bargalló N, et al: Interactions of cognitive reserve with regional brain anatomy and brain function during a working memory task in healthy elders. *Biol Psychol*. 2009, 80:256-259.

Bartrés-Faz D, Clemente IC, Junqué C. Cambios en la sustancia blanca y rendimiento cognitivo en el envejecimiento. *Rev Neurol* 2001; 33:347-353.

Bartzokis G. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2004; 25: 5-18.

Bartzokis G, Lu PH, Mintz J. Human brain myelination and amyloid beta deposition in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2007; 3:122-125.

Basser PJ, Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B.* 1996; 111:209-219.

Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system – a technical review. *NMR Biomed.* 2002; 15:435-455.

Beaulieu, C. The biological basis of diffusion anisotropy. In H. Johansen-Berg, TE Behrens (Eds.), *Diffusion MRI (1<sup>o</sup> ed)* . Academic Press.

Bennett IJ, Madden DJ, Vaidya CJ, Howard DV, Howard JH. Age-related differences in multiple measures of white matter integrity: a diffusion tensor imaging study of healthy aging. *Hum Brain Mapping.* 2009; Aug 6. [Epub ahead of print].

Bokde A L, Lopez-Bayo P, Born C, Dong W, Meindl T, Leinsinger G, Teipel S J, Faltraco F, Reiser M, Moller H J, Hampel H. Functional abnormalities of the visual processing system in subjects with mild cognitive impairment: an fMRI study. *Psychiatry Res.* 2008; 163: 248-259.

Bokde A L, Lopez-Bayo P, Meindl T, Pechler S, Born C, Faltraco F, Teipel S J, Moller H J, Hampel H. Functional connectivity of the fusiform gyrus during a face-matching task in subjects with mild cognitive impairment. *Brai.* 2006; 129: 1113-1124.

Bokde A L, Lopez-Bayo P, Born C, Ewers M, Meindl T, Teipel S J, Faltraco F, Reiser M F, Moller H J, Hampel H. Alzheimer disease: functional abnormalities in the dorsal visual pathway. *Radiology.* 2010; 254: 219-226.

Bookheimer S Y, Strojwas M H, Cohen M S, Saunders A M, Pericak-Vance M A, Mazziotta J C, Small G W. Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N.Engl.J.Med* 2000; 343: 450-456.

Bozzali M, Filippi M, Magnani G, Cercignani M, Franceschi M, Schiatti E, et al. The contribution of voxel-based morphometry in staging patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2006;67:453-460.

Braak H, Braak E. Neurophatological staging of Alzheimer's Disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*. 2002; 297:353-356.

Breteler MM, van Swieten JC, Bots ML, et al., Cerebral white matter lesions, vascular risk factors, and cognitive function in a population-based study: The Rotterdam study. *Neurology* 1994; 44:1246-52.

Buckner R L, Andrews-Hanna J R, Schacter D L. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2008; 1124: 1-38.

Burns A, Zaudig M. Mild cognitive impairment in older people. *Lancet*. 2002;360:1963-1965.

Cabeza R. Cognitive neuroscience of aging: Contributions of functional neuroimaging. *Scand J Psicol* 2001; 42: 277-286.

Cabeza R, Nyberg L. Functional neuroimaging of memory. *Neuropsychologia*.2003: 41: 241-244.

Celone K A, Calhoun V D, Dickerson B C, Atri A, Chua E F, Miller S L, DePeau K, Rentz D M, Selkoe D J, Blacker D, Albert M S, Sperling R A. Alterations in memory networks in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an independent component analysis. *J.Neurosci*.2006; 26: 10222-10231.

Chalmers K, Wilcock G, Love S. Contributors to white matter damage in the frontal lobe in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2005; 31: 623-631.

Charlton RA, Barrick TR, McIntyre DJ, Shen Y, O'Sullivan M, Howe FA, Clark CA, Morris RG, Markus HS. White matter damage on diffusion tensor imaging correlates with age-related cognitive decline. *Neurology*.2006; 66:217-222.

Chételat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Eustache F, Baron JC. Mapping gray matter loss with voxel-based morphometry in mild cognitive impairment. *Neuroreport*. 2002;13:1939-1943.

Chételat G, Landeau B, Eustache F, Mézenge F, Viader F, de la Sayette V, et al. Using voxel-based morphometry to map the structural changes associated with rapid conversion in MCI. A longitudinal MRI study. *Neuroimage*. 2005;27: 934-946.

Chételat G, Fouquet M, Kalpouzos G, Denghien I, de la Sayette V, Viader F, et al. Three-dimensional surface mapping of hippocampal atrophy progression from MCI to AD and over normal aging as assessed using voxel-based morphometry. *Neuropsychología*. 2008; 46:1721-1731.

Clark V P, Keil K, Maisog J M, Courtney S, Ungerleider L G, Haxby J V (1996) Functional magnetic resonance imaging of human visual cortex during face matching: a comparison with positron emission tomography. *Neuroimage* 4, 1-15.

Colcombe SJ, Erickson KI, Raz N, et al. Aerobic fitness reduces brain tissue loss in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2003 Feb; 58:176-180.

Corbetta M, Miezin F M, Shulman G L, Petersen S E. A PET study of visuospatial attention. *J. Neurosci*. 1993. 13; 1202-1226.

Damoiseaux JS, Beckmann CF, Sanz Arigita EJ, Barkhof F, Scheltens Ph, Stam CJ, Smith SM, Rombouts SARB. Reduced resting-state brain activity in the "default network" in normal aging. *Cerebral Cortex*. 2008; 18: 1856-1864.

Damoiseaux JS, Smith SM, Witter MP, Sanz-Arigita EJ, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Zarei M, Rombouts SA. White matter tract integrity in aging and Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30:1051-1059.

Daselaar SM, Prince SE, Cabeza R. When less means more: deactivations during encoding that predict subsequent memory. *Neuroimage*. 2004; 23: 921-927.

Davis SW, Dennis NA, Buchler NG, White LE, Madden DJ, Cabeza R. Assessing the effects of age on long white matter tracts using diffusion tensor tractography. *Neuroimage*. 2009; 46:530-541.

Dennis NA, Cabeza R. Neuroimaging of healthy aging and dementia. En: *The handbook of aging and cognition*. 3ª edición: Nueva York: Psychology Press. 2008.p.1-54.



DeLeeuw FE, de Groot JC, Oudkerk M et al. Hypertension and cerebral white matter lesions in a prospective cohort study. *Brain* 2002; 125:765-772.

DeToledo Morrell L, Stoub TR, Bulgakova M, Wilson RS, Bennett DA, et al. MRI-derived entorhinal volume is a good predictor of conversion from MCI to AD. *Neurobiol Aging* 2004;25:1197-1203.

Dickerson B C, Salat D H, Greve D N, Chua E F, Rand-Giovannetti E, Rentz D M, Bertram L, Mullin K, Tanzi R E, Blacker D, Albert M S, Sperling R A. Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology*. 2005; 65: 404-411.

Dickerson BC, Bakkour A, Salat DH, Feczko E, Pacheco J, Greve DN, et al. The cortical signature of Alzheimer's disease: regionally specific cortical thinning relates to symptom severity in very mild to mild AD dementia and is detectable in asymptomatic amyloid-positive individuals. *Cer cortex*. 2008; doi:10.1093/cercor/bhn 113.

Duan JH, Wang HQ, Xu J, Lin X, Chen SQ, KangZ, Yao ZB. White matter damage of patients with Alzheimer's disease correlated with the decreased cognitive function. *Surg Radiol Anat* 2006; 28:150-156.

Ebeling U, von Cramon D. Topography of the uncinate fascicle and adjacent temporal fiber tracts. *Acta Neurochir*. 1992; 115:143-148.

Farkas E, Luiten PG. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Progress in Neurology*, 64 (6), 575-611.

Fellgiebel A, Müller M, Wille P, Dellani PR, Scheurich A, Schmidt LG, et al. Color-coded diffusion-tensor-imaging of posterior cingulate fiber tracts in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2005;26:1193-1198.

Fellgiebel A, Wille P, Müller M, Winterer G, Scheurich A, Vucurevic G, et al. Ultrastructural hippocampal and white matter alterations in mild cognitive impairment: a diffusion tensor imaging study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004;18:1001-1008.

Fellgiebel A, Schermuly I, Gerhard A, Keller I, Albrecht J, Weibrich C, Müller mJ, Stoeter P. Functional relevant loss of long association fibre tracts integrity in early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*. 2008; 46:1698-1706.

Fisher P, Jungwirth S, Zehetmayer S, et al. Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology* 2007; 68: 288-291.

Fromholt P, Mortensen DB, Torpdahl P, Bender L, Larsen P, Rubin DC. Life-narrative and Word cued autobiographical memories in centenarians: comparisons with 80-year-old control, depressed, and dementia groups. *Memory*.2003;11:81-88.

Ganguli M, Dodge HH, Shen C, et al., Mild cognitive impairment, amnesic type: an epidemiological study. *Neurology* 2004; 63:115-121.

Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RN, Friston KJ, Frackowiak, Rs. A voxel-based morphometric study of aging in 465 normal adult human brains. *Neuroimage*. 2001.14; 21-36.

Gordon BA, Rykhlevskaia EI, Brumback CR, et al: Neuroanatomical correlates of aging, cardiopulmonary fitness level, and education *Psychophysiology*. 2008; 45: 825–838.

Grady CL, Furey ML, Pietrini P, Horwitz B, Rapoport SI. Altered Brain functional connectivity and impairment short-term memory in Alzheimer's disease. *Brain*. 2001;124:739-756.

Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL and Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 4637-4642, 2004a.

Greicius MD and Menon V. Default-mode activity during a passive sensory task: uncoupled from deactivation but impacting activation. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 16: 1484-1492, 2004b.

Greicius MD, Supekar K, Menon V, Dougherty RF. Resting state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cerebral Cortex*. 2009; 19:72-78.

Griev SM, Williams LM, Paul RH, Clark CR, Gordon E. Cognitive aging, executive function, and fractional anisotropy: a diffusion tensor MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007; 28:226-235.

Grill-Spector K. The neural basis of object perception. *Curr.Opin.Neurobiol.* 2003. 13, 159-166.

Hanyu H, Sakurai H, Iwamoto T, Takasaki M, Shindo H, Abe K. Diffusion-weighted MR imaging of the hippocampus and temporal white matter in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1998; 156:195-200.

Hachinski V. Diagnosis of Alzheimer's disease: two decades of progress. *Alzheimer demet* 2: 3:261.

Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science.* 2002; 297: 353-356.

Harrison BJ, Pujol J, López-Sola M, Hernández-Ribas R, Deus J, Ortiz H, Soriano-Mas C, Yücel M, Pantelis C, Cardoner N. Consistency and functional specialization in the default mode brain network. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*2008; 105: 9781-9786.

Harsan LA, Pulet P, Guignard B, Steibel J, Parizel N, de Sousa PL, Boehm N, Greucker D, Ghandour MS. Brain dysmyelination and recovery assesment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonante imaging. *J Neurosci Res.* 2006; 83:392-402.

Haxby J V, Grady C L, Horwitz B, Ungerleider L G, Mishkin M, Carson R E, Herscovitch P, Schapiro M B, Rapoport S I. Dissociation of object and spatial visual processing pathways in human extrastriate cortex. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*1991: 88, 1621-1625.

Haxby J V, Horwitz B, Ungerleider L G, Maisog J M, Pietrini P, Grady C L. The functional organization of human extrastriate cortex: a PET-rCBF study of selective attention to faces and locations. *J.Neurosci.* 1994. 14, 6336-6353.

Hedden T, Park DC. Contributions of source and inhibitory mechanism to agerelated retroactive interference in verbal working memory. *J Exp Psy.* 2003; 132:93-112.

Huang J, Auchus AP. Diffusion tensor imaging of normal appearing white matter and its correlation with cognitive functioning in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.*,2001; 1097:259-264.

Huang J, Friedland RP, Auchus AP. Diffusion tensor imaging of normal-appearing white matter in mild cognitive impairment and early Alzheimer disease: preliminary evidence of axonal degeneration in the temporal lobe. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007;28:1943-1948.

Inoue K, Ito H, Uchida S, Taki Y, Kinomura S, Tsuji I, et al. Decrease in glucose metabolism in frontal cortex associated with deterioration of microstructure of corpus callosum measured by diffusion tensor imaging in healthy elderly. *Human Brain Mapping.* 2008; 29:375-384.

Ito K, Barnes PJ. COPD as a disease of accelerated lung aging. *Chest*. 2009. 135:173-180.

Jack CR, Petersen RC, Xu YC, O'Brien PC, Smith GE, Ivnik RJ, et al. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology* 1999;52:1397-1403.

Jokinen H, Ryberg C, Kalasa H, Ylikoski R, Rostrup E, Stegmann MB, et al. Corpus callosum atrophy is associated with mental slowing and executive deficits in subjects with age-related white matter hyperintensities: The Ladis study. *Journal of Neurol, Neurosurg and Psych*. 2007; 78: 491-496.

Kantarci K, Jack CR, Xu YC, Campeau NG, O'Brien PC, Smith GE, et al. Mild cognitive impairment and Alzheimer disease: regional diffusivity of water. *Radiology*. 2001;219:101-107.

Kantarci K, Petersen RC, Beove BF, Knopman DS, Weigand SD, O'Brien PC, et al. DWI predicts future progression to Alzheimer disease in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*. 2005; 64: 902-904.

Killiany RJ, Hyman BT, Gomez-Isla T, Moss MB, Kikinis R, Jolesz F, et al. MRI measures of entorhinal cortex vs hippocampus in preclinical AD. *Neurology* 2002;58:1188-1196.

Kiuchi K, Morikawa M, Taoka T, Nagashima T, Yamauchi T, Makinodan M, Norimoto K, Hashimoto K, Kosaka J, Inoue Y, Inoue M, Kichikawa k, Kishimoto T. Abnormalities of the uncinat fasciculus and posterior cingulated fasciculus in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease: A diffusion tensor tractography study. *Brain Res*. 2009;Jun 24. [Epub ahead of print].

La Ferla B, Spinosa V, D'Orazio G, Palazzo M, Balsari A, Foppoli AA, Rumio C, Nicotra F. Dansyl C-glucoside as a novel agent against endotoxic shock. *ChemMedChem*. 2010 Oct 4;5(10):1677-80.

Le Bihan D. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nat Rev Neurosci* 2003;4: 469-480.

Lenzi D, Serra L, Perri R, Pantano P, Lenzi G L, Paulesu E, Caltagirone C, Bozzali M, Macaluso E. Single domain amnesic MCI: A multiple cognitive domains fMRI investigation. *Neurobiol.Aging*. 2009.

Lezak D, Howieson DB, Loring DW, Hannay HJ, Fischer JS. *Neuropsychological Assessment*. Oxford University Press, New York, 2004.

Liu Y, Spulber G, Lehtimäki KK, Könönen M, Hallikainen I, Kivipelto K, Hallikainen M, Vanninen R, Soininen H. Diffusion tensor imaging and Tract-Based Spatial Statistics in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2009; Nov 11. [Epub ahead of print]

Logothetis NK, Pfeuffer J. On the nature of BOLD fMRI contrast mechanism. *Magn Reson Imaging*. 2004; 22: 1575-1531.

Lopez OL, Jagust WJ, Dekosky ST, et al., Prevalence and classification of mild cognitive impairment in the cardiovascular Health Study Cognition Study: part 1. *Arch Neurol* 2003; 60:1385-1389.

Lopez OL, Becker JT, Jagust WJ, et al. Neuropsychological characteristics of mild cognitive impairment subgroups. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77:159-165.

Lustig C, Snyder AZ, Bhakta M, O'Brien KC, McAvoy M, Raichle ME, Morris JC, and Buckner RL. Functional deactivations: Change with age and dementia of the Alzheimer type. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003; 100: 14204-14509.

Machulda MM, Ward HA, Borowski B, Gunter JL, Cha RH, O'Brien PC, et al., Comparison of memory fMRI response among normal, MCI and Alzheimer's patients. *Neurology*. 2003; 61:500-506.

Mattson MP, Magnus T. Ageing and neuronal vulnerability. *Nature reviews. Neuroscience*. 2006; 278-294.

McIntosh, AR. Towards a network theory of cognition. *Neural Networks: The Official Journal of the international neural networks Society*. 2000; 13: 861-870.

McKiernan KA, Kaufman JN, Kucera-Thompson and Binder JR. A parametric manipulation of factors affecting task-induced deactivation in functional neuroimaging. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2003; 15: 394-408.

McKnight C, Rockwood K, Awalt E, et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia, Alzheimer disease and vascular cognitive impairment in the Canadian Study of health and aging. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002; 14:77-83.

Medina D, de Toledo-Morell L, Urresta F, Gabrieli JDE, Moseley M, Flieschman D, et al. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: a diffusion tensor imaging study. *Neurobiol Aging* 2006;27:663-672.

Mesulam MM . From sensation to cognition. *Brain: A Journal of Neurology*. 1998; 121(pt 6): 1013-1052.

Mielke MM, Kozauer NA, Chan KC, George M, Toroney J, Zerrate M, Bandeen-Roche K, Wang, MC, Vanzijl P, Pekar KK, MorisS, Lyketros CG, Albert M. Regionally-specific diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2009; 46:47-55.

Morris JC, Price AL. Pathologic correlates of nondemented aging, mildcognitive impairment, and early-stage Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*. 2001. Oct;17(2):101-18. Review.

Müller MJ, Greverus D, Dellani PR, Weibrich C, Wille PR, Scheurich A, et al. Functional implications of hippocampal volume and diffusivity in mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 2005;28:1033-1042.

Nakata Y, Sato N, Nemoto K, Abe O, Shikakura S, Arima K, et al. Diffusion abnormality in the posterior cingulum and hippocampal volume: correlation with disease progression in Alzheimer's disease. *Magn. Reson Imaging*. 2009; 27:347-54.

Nebes RD, Meltzer CC, Whyte EM et al: The relation of white matter hyperintensities to cognitive performance in the normal old: education matters. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn* 2006; 13: 326-340.

Nestor SM, Rupsingh R, Borrie M, Smithh M, Accomazzi V, Wells LJ,et al. Ventricular enlargement as a possible measure of Alzheimer's disease progression validated using the Alzheimer's disease neuroimaging initiative database. *Brain*. 2008; 131:2443-2454.

Nordahl C, Ranganath C, Yonelinas AP, Decarli C, Fletcher E, jagust WJ. White matter changes compromise prefrontal cortex function in healthy elderly individuals. *Journal of cognitive Neuroscience*. 2006. 18;418-429.

O'Sullivan M, Jones DK, Summers PE, Morris RG, Williams SC, Markus HS. Evidence for cortical 'disconnection' as a mechanism of age-related cognitive decline. *Neurology*. 2001: 57:632-638.

Park DC, Reuter-Lorenz. The adaptatative brain, aging and neurocognitive scaffolding. *Annual review of Psychology*. 2009;60: 173-196.

Pfefferbaum A, Adalsteisson E, Sullivan E. Frontal circuitry degradation marks healthy adult aging: Evidence from diffusion tensor imaging. *Neuroimage* 2005;26:891-899.

Pfefferbaum A,Sullivan EV, Hedehus M, Lim KO, Adalsteinsson E, Moseley M. Age-related decline in brain white matter anisotropy measured with spatially corrected eco-planar diffusion tensor imaging. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the society of Magnetic Resonance in Medicine/Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 2006; 44; 259-268.

Pariante J, Cole S, Henson R, Clare L, Kennedy A, Rossor M, et al. Alzheimer's patients engage an alternative network during memory task. *Ann Neurol*. 2005; 58:870-879.

Pennanen C, Kivipelto M, Tuomainen S, Hartikainen P, Hänninen T, Laakso MP, et al. Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiol Aging* 2004;25:303-310.

Persson J, Lustig C, Nelson JK and Reuter-Lorenz P. Age differences in deactivation: a link to cognitive control? *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2007; 19: 1021-1032.

Petersen R C, Doody R, Kurz A, Mohs R C, Morris J C, Rabins P V, Ritchie K, Rossor M, Thal L, Winblad B . Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch.Neurol*.2001; 58, 1985-1992.

Petersen RC, Smith GE, Waring SC, et al., Mild Cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56:303-308.

Petrella JR, Wang L, Krishnan S, Slavin MJ, Prince SE, Tran TT and Doraiswamy PM. Cortical deactivation in mild cognitive impairment: High-field-strength functional MR Imaging. *Neuroradiology*. 245: 224-234, 2007a.

Petrella J R, Prince S E, Wang L, Hellegers C, Doraiswamy P M . Prognostic value of posteromedial cortex deactivation in mild cognitive impairment. *PLoS One*.2007; 2, e1104.

Petrides, M., Pandya, D.N., 1988. Association fiber pathways to the frontal cortex from the superior temporal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*.1988; 273(1):52-66.

Qi Z, Wu X, Wang Z, Zhang N, Dong H, Yao L, Li K. Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. *Neuroimage*. 2010; 50, 48-55.

Querbes O, Aubry F, Pariante J et al: Early diagnosis of Alzheimer's disease using cortical thickness: impact of cognitive reserve. *Brain* 2009 May 12. [Epub ahead of print]

Raz N, Gunning FM, Head D, Dupuis JH, McQuain J, Briggs SD, et al. Selective aging of the human cerebral cortex observed in vivo: Differential vulnerability of the prefrontal gray matter. *Cerebral Cortex*. 1997; 7: 268-282.

Raz N, Kennedy KM. A Systems approach to age-related change: Neuroanatomic changes, their modifiers, and cognitive correlates. In W. Jagust & Desposito (Eds.), *Imaging the aging brain* (pp.43-70). New York: Oxford University Press.

Raz N, Rodrigue KM. Differential aging of the brain: Patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neuroscience and Behavioral Review*. 2006; 30: 730-748.

Reiman EM, Chen KW, Liu. Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk of Alzheimer's disease. *PNAS* 2009; 106: 6820-6825.

Reuter-Lorenz P. New vision of the aging, mind and brain. *Trends Cogn Sci*. 2002; 6:394.

Rice DP, et al. Prevalence, costs, and treatment of Alzheimer's disease and related dementia: a managed care perspective. *Am J Manag Care*. 2001; 7:809-818.

Ritchie K. Mild cognitive impairment an epidemiological perspective. *Dialogues Clin Neurosci* 2004; 6:401-408.

Ritchie K, Artero S, Touchon J. Classification criteria for mild cognitive impairment: A population based validation study. *Neurology* 2001; 56:37-42.

Rodrigue KM, Raz N. Shrinkage of the Entorhinal Cortex over Five Years Predicts Memory Performance in Healthy Adults. *J Neurosci* 2004;24:956-963.

Rombouts SARB, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ and Scheltens P. Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Human Brain Mapping* 2005; 26: 231-239.

Rose SE, McMahon KL, Janke AL, O'Dowd B, de Zubicaray G, Strudwick MW, et al. Diffusion indices on magnetic resonance imaging and neuropsychological performance in amnesic mild cognitive impairment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006;77:1122-1128.

Salat DH, Tuch DS, Greve DN, van der Kouwe AJ, Hvelone ND, Zaleta AK, et al., Age-related alterations in white matter microstructure measured by diffusion tensor imaging. *Neurobiol Aging*. 2005; 26: 1215-1227.

Salat DH, Tuch, DS., van der Kouw, AJ, Greve DN, Pappu V, Lee SY, Hevelone ND, Zaleta AK, Growdon JH, Corkin S, Fischl B, Rosas H D. White matter pathology isolates the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, 2010; 31: 244-56.

Satz P: Brain reserve capacity on symptom onset after brain injury: a formulation and review of evidence for threshold theory. *Neuropsychology* 1993; 7: 273-295.

Segura B, Jurado MA, Freixenet N, et al. Microstructural white matter changes in metabolic syndrome. *Neurolog* 2009; 73:438-444.



Scarmeas N, Zarahn E, Anderson KE, et al: Association of life activities with cerebral blood flow in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 359-365.

Schiavone F, Charlton RA, Barrick TR, Morris RG, Markus HS. Imaging age-related cognitive decline: A comparison of diffusion tensor and magnetization transfer MRI. *J Magn Reson Imaging* 2009, 29:23-30.

Schimamura AP. Memory and cognitive abilities in university professors: Evidence for successful aging. *Psychol. Sci.* 1995.6: 271-277.

Serra-Grabulosa JM, Salgado-Pineda P, Junqué C, et al. Apolipoproteins E and C1 and brain morphology in memoryimpairedelders. *Neurogenetics*2003; 4:141-146.

Shulman RG, Rothman DL, Behar KL, Hyder F. Energetic basis of brain activity: implications for neuroimaging. *Trends Neurosci.* 2004 Aug;27:489-95. Review.

Small SA, Tsai WY, DeLaPaz, Mayeux R, Stern Y. Imaging hippocampal function across the human live span: Is memory decline normal or not? *Annals of Neurology.* 2002; 51: 290-295.

Smith C D, Andersen A H, Kryscio R J, Schmitt F A, Kindy M S, Blonder L X, Avison M J. Altered brain activation in cognitively intact individuals at high risk for Alzheimer's disease. *Neurology.* 1999; 53, 1391-1396.

SmithSM, Johansen-Berg H, Jenkinson M, Rueckert D, NicholSTE, Miller KL, Robson MD, Jones DK, Klein J, Bartsch AT, Beherens.E.. Acquisition and voxelwise analysis of multi-subject diffusion data with tract-based spatial statistics. *Nat Protoc*2007; 2:499-503.

Solé-Padullés,C, Bartrés-Faz D, Junqué C, Vendrell P, Ramil, Clemente IC, Bosch B, Villar A, Bargalló N, Jurado MA, Barrios M Molinuevo JL. Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.*2009; 30:1114-24.

Song, S.K., Yoshino, J., Le, T.Q., Lin, S.J., Sun, S.W., Cross, A.H., Armstrong, R.C., 2005. Demyelination increases radial diffusivity in corpus callosum of mouse brain. *Neuroimage*, 26(1):132-40.

Sperling RA, Bates JF, Chua EF, Cocchiarella AJ, Rentz DM, Rosen BR, et al., fMRI studies of associative encoding in young and elderly controls and mild Alzheimer's disease, *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003; 74:44-50.

Stern Y. What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society* 2002; 8: 448–460.

Stern Y. Cognitive reserve. *Neuropsychologia*, 2009 vol. 47, no10, pp.2015-28.

Sullivan EV, Pfefferbaum A. Diffusion tensor imaging and aging. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 2006. 30: 749-761.

Le Bihan D. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nat Rev Neurosci*. 2003 Jun;4(6):469-80. Review.

Lehtovirta M, Laakso MP, Frisoni GB, et al. How does the apolipoprotein E genotype modulate the brain in aging and in Alzheimer's disease? A review of neuroimaging studies. *Neurobiol Aging* 2000; 21:293-300.

Stricker NH, Schweinsburg BC, Delano-Wood L, Wierenga CE, Bangen KJ, Haaland KY, Frank LR, Salmon DP, Bondi MW. Decreased white matter integrity in late myelinating fiber pathways in Alzheimer's disease supports retrogenesis. *Neuroimage*. 2009; 45(1):10.

Sullivan EV, Rohlfing T, Pfefferbaum A. Quantitative fiber tracking of lateral and interhemispheric white matter systems in normal aging: Relations to timed performance. *Neurobiol Aging*, 2008; May 19. [Epub ahead of print]

Taoka T, Iwasaki S, Sakamoto M, Nakagawa H, Fukusumi A, Myochin K, Hirohashi S, Hoshida T, Kichikawa . Diffusion anisotropy and diffusivity of white matter tracts within the temporal stem in Alzheimer disease: evaluation of the "tract of interest" by diffusion tensor tractography. *AJNR AM J Neuroradiol* 2006; 27:1040-1045.

Tapiola T, Pannanen C, Tapiola M, Tervo S, Kivipelto M, Hänninen T, et al. MRI of hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment: a follow-up study. *Neurobiol Aging*. 2006; Nov 9; [Epub ahead of print]

Teipel S J, Bokde A L, Born C, Meindl T, Reiser M, Moller H J, Hampel H. Morphological substrate of face matching in healthy ageing and mild cognitive impairment: a combined MRI-fMRI study. *Brain*. 2007; 130, 1745-1758

Teipel SJ, Meindl T, Wagner M et al: White matter microstructure in relation to education in aging and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009 May 11 [Epub ahead of print]

Terry RD, Katzman R. Life span and synapses: Will there be a primary senile dementia? *Neurobiology of Aging*. 2001; 22: 347-348; discussion 353-354.

Tisserand DJ, Jolles J. On the involvement of prefrontal networks in cognitive ageing. *Cortex: a Journal devoted to the study of the Nervous System and Behavior*,. 2003; 39: 1107-1128.

Umarova R M, Saur D, Schnell S, Kaller C P, Vry M S, Glauche V, Rijntjes M, Hennig J, Kiselev V, Weiller C. Structural Connectivity for Visuospatial Attention: Significance of Ventral Pathways. *Cereb.Cortex* 2009.

Umarova R M, Saur D, Schnell S, Kaller C P, Vry M S, Glauche V, Rijntjes M, Hennig J, Kiselev V, Weiller C. Structural connectivity for visuospatial attention: significance of ventral pathways. *Cereb.Cortex*. 2010; 20, 121-129.

Ungerleider, L.G., Gaffan, D., Pelak, V.S., 1989. Projections from inferior temporal cortex to prefrontal cortex via the uncinate fascicle in rhesus monkeys. *Exp Brain Res*, 76(3):473-484.

Valenzuela MJ, Sachdev P, Wen W, et al: Lifespan mental activity predicts diminished rate of hippocampal atrophy. *PLoS One* 2008 Jul 9; 3(7):e2598.

Vandenbulcke M, Peters R, Dupon P, van Hecke P, Vandenberghe R. Word reading and posterior temporal dysfunction in amnesic mild cognitive impairment. *Cerebral Cortex*. 2007; 3:542-551.

Vannini P, Almkvist O, Dierks T, Lehmann C, Wahlund L O. Reduced neuronal efficacy in progressive mild cognitive impairment: a prospective fMRI study on visuospatial processing. *Psychiatry Res*.2007; 156: 43-57.

Vernooij MW, Ikram MA, Vrooman HA, Wielopolski PA, Krestin GP, Hofman A, et al. White matter microstructural integrity and cognitive function in a general elderly population. *Archives of General Psychiatry*. 2009; 66:545-553.

Walhovd KB, Fjell AM, Amlie I, Grambaite R, Stenset V, Bjørnerud A, Reinvag I, Gjerstad L, Cappelen T, Due-Tonnessen P, Fladby T. Multimodal imaging in mild cognitive impairment: Metabolism, morphometry and diffusion of the temporal-parietal memory network. *Neuroimage*. 2009; 45:215-223.

Wallin A, Gottfries CG, Karlsson I, Svennerholm L. Decreased myelin lipids in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Acta Neurol Scand*. 1989; 80(4):319-23.

Wang L, Goldstein FC, Veledar E, Levey AI, Lah JJ, Meltzer CC, Holder CA., Mao H. Alterations in cortical thickness and white matter integrity in mild cognitive impairment measured by whole-brain cortical thickness mapping and diffusion tensor imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2009; 30:893-899.

Wen W, Schdev P. The topography of white matter hyperintensities on brain MRI in healthy 60 to 64 years old individuals. *Neuroimage*. 2004; 22:144-154.

Xie S, Xiao JX, Gong GL, Zang F, Wang YH, Wu HK, Jiang XX. Voxel-based detection of white matter abnormalities in mild Alzheimer disease. *Neurology*2006; 66(12):1845-1849.

Xu Y, Jack CR, O'Brien PC, Kokmen E, Smith GE, Ivnik RJ, et al. Usefulness of MRI measures of entorhinal cortex versus hippocampus in AD. *Neurology* 2000;54:1760-1767.

Yasmin H, Nakata Y, Aoki S, Abe O, Sato N, Nemoto K, Arima K, Furuta N, Uno M, Hirai S, Masutani Y, Ohtomo K. Diffusion abnormalities of the uncinate fasciculus in Alzheimer's disease: difusión tensor tract-specific analysis using anew method to measure the core of the tract. *Neuroradiology*,2008; 50(4):293-299.

Yetkin FZ, Rosenberg RN, Wener MF, Prtudy PD, Cullum CM. FMRI of working memory in patients with mild cognitive impairment and provable Alzheimer's disease. *Eur radiol*.2006; 16:193-206.

Yoshita M, Fletcher E, Harvey D, Ortega M, Martinez O, Mungas DM, et al. Extent and distribution of white matter hyperintensities in normal aging, MCI and AD. *Neurology* 2006;67:2192-2198.

Zahr NM, Rohlfing T, Pfefferbaum A, Sullivan EV. Problem solving, working memory, and motor correlates of association and commissural fiber bundles in normal aging: a quantitative fiber tracking study. *Neuroimage*,.2009; 44(3):1050-1062.

Zhang, Y., Schuff, N., Jahng, G.H., Bayne, W., Mori, S., Schad, L., Mueller, S., Du, A.T., Kramer, J.H., Yaffe, K., Chi, H., Jagust, W.J., Miller, B.L., Weiner, M.W., 2007. Diffusion tensor imaging of cingulum fibers in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology*, 68(1):13-19.

Zhang Y, Du AT, Hayasaka S, Jahng GH, Hlavin J, Zhan W, Weiner MW, Schuff N. Patterns of age-related water diffusion changes in human brain by concordance and discordance analysis. *Neurobiol Aging*,. 2008 Nov 24. [Epub ahead of print]



## 8.- RESUMEN DE LA TESIS

## 8.- RESUMEN DE LA TESIS

### INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un fenómeno natural, continuo y universal que afecta a todos los seres vivos, aunque no de la misma manera o con la misma intensidad (Arking, 1991).

El proceso de envejecimiento se ha asociado a un conjunto de procesos celulares (Mattson y col., 2006) que provocan el deterioro de un número importante de funciones cerebrales (Rodrigue y Raz, 2004) y de procesos sensoriales y cognitivos (Baltes y Linderberger, 1997; Park y col., 1996). El envejecimiento viene acompañado de transformaciones estructurales y funcionales en prácticamente todos los órganos y sistemas (Biondo-Simoes y col., 2006, Weinert y Timiras 2003; Wolf-Maier y col., 2003; Ito y Marnes 2009), incluyendo el Sistema Nervioso Central (SNC) (Raz and Kennedy, 2009).

Se han descrito diferentes procesos que afectan a nivel molecular el SNC durante el envejecimiento normal (por revisión de Mattson y col., 2006) y estos cambios experimentados en el entorno de las neuronas influyen en los procesos de daño neuronal. La afectación crónica de las células del SNC puede producir un estado de disfunción neuronal que comporte déficits cognitivos y conductuales, así como las alteraciones cerebrales típicamente descritas durante el envejecimiento (Farkas y col., 2001).

La mayoría de investigaciones sobre envejecimiento describen cambios estructurales. Estudios post-mortem de envejecimiento cerebral han confirmado diferencias neuroanatómicas como la pérdida de peso y volumen cerebral, la dilatación de los ventrículos y la expansión de los surcos cerebrales. Otro cambio relacionado con el envejecimiento normal es la pérdida de conectividad cerebral por afectación de las fibras de SB (Raz y col., 2006). La mayor contribución a la pérdida de volumen cerebral asociados a la edad es la disminución de densidad sináptica, y no tanto por muerte neuronal ( Masliash y col, 1993; Peters y col, 1996; Terry y col., 2001).

Los estudios de volumetría cerebral con resonancia magnética (RM) permiten evidenciar diferencias regionales respecto a la afectación neuroanatómica asociada a la edad. Los cambios volumétricos que afectan a la sustancia gris (SG) del córtex prefrontal son más importantes durante la edad adulta y el envejecimiento (Raz y col., 1997). Estudios realizados con la técnica de Voxel-Based Morphometry (VBM) corroboran los resultados de los estudios volumétricos, mostrando un declive general de la SG y una afectación específica del cíngulo,

la ínsula y el parietal superior. Además estos estudios encuentran un incremento del volumen del líquido cefalorraquídeo y una relativa preservación de las estructuras temporales (amígdala, hipocampo y córtex entorrinal) (Good y col., 2001).

La instauración del uso habitual de técnicas de neuroimagen estructural ha permitido junto con el estudio de la materia gris, el estudio de la sustancia blanca. Los estudios de DTI han propuesto un patrón de deterioro asociados a la edad que sugiere un gradiente antero-posterior, con cambios de SB más prominentes en los lóbulos frontal y parietal, y menor afectación del lóbulo occipital y de SB posterior (Salat y col., 2009). Estudios recientes vinculan la reducción de la anisotropía de la parte anterior del cuerpo callosos durante el envejecimiento con un metabolismo de la glucosa cerebral inferior en esta región (Inoue y cols., 2008) y peor rendimiento en tareas cognitivas (Jokinen y col., 2007) vinculadas especialmente con circuitos córtico-subcorticales (Nordhal y col., 2006). Estos cambios no están necesariamente vinculados a una pérdida de volumen total de SB y parecen comportar un declive lineal de la integridad de la SB a partir de la edad adulta (Sullivan y col., 2006, por revisión).

Además, los múltiples cambios cerebrales relacionados con la edad parecen ser relevantes para la comprensión de la vulnerabilidad y susceptibilidad del cerebro a procesos neurodegenerativos, vinculados a mecanismos patógenos de varias enfermedades. Así, el envejecimiento es un factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer (EA), que constituye la demencia más frecuente.

Esta tesis se ha centrado en la EA y su fase prodrómica que se manifiesta como el síndrome denominado Deterioro Cognitivo Leve (DCL; Petersen, 2001), y especialmente, en el estudio de las características cerebrales que confieren a determinadas personas una resistencia a la manifestación del daño cerebral asociado al envejecimiento o a los estadios iniciales de la demencia, ya que es un área de máximo interés en investigación en neurociencia, si se consiguen comprender los mecanismos específicos, podrán mejorarse las estrategias dirigidas a paliar el impacto del deterioro cognitivo en la edad avanzada.

La EA es la causa más frecuente de demencia siendo responsable de al menos un 60-70% de las demencias. La prevalencia se dobla cada 5 años después de los 65 hasta calcularse una prevalencia del 40% para los mayores de 85 años (Rice, 2001). La investigación básica ha progresado sustancialmente en el conocimiento de la etiología y sobretodo de la patogénia de la EA y existen numerosos estudios que muestran que la patología de la EA está presente décadas antes de que se pueda hacer un diagnóstico clínico de demencia (Braak y Braak ,



1991). Actualmente hay numerosos fármacos modificadores de la enfermedad que se están testando en ensayos clínicos (Hardy y Selkoe., 2002). El beneficio máximo de estos fármacos es esperable que ocurra en fases precoces de la enfermedad, antes de que la neurodegeneración esté muy extendida. Por ese motivo, actualmente, el diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer es una prioridad.

Dado que el deterioro de la memoria suele ser la característica clínica más precoz en la EA, los pacientes con disfunción de la memoria son un gran foco de interés. En este sentido, varias etapas transicionales previas al diagnóstico clínico de EA han sido descritas, siendo las fases preclínica y prodrómica una prioridad en salud importante.

La alteración de la memoria episódica representa el síntoma cognitivo inicial de la enfermedad de Alzheimer (EA) (Grober y col., 2000). Por ese motivo, el grupo de pacientes amnésicos constituye un grupo de gran interés clínico y científico a fin de identificar a aquellos pacientes con mayor probabilidad de evolucionar hacia EA en un futuro inmediato (Morris y col., 2001; López y col., 2007).

El DCL amnésico (DCL-a) se caracteriza por un déficit objetivo de memoria aislado de acuerdo con la edad y nivel de escolaridad y corroborado por un informador, con preservación del resto de áreas cognitivas y actividades de la vida diaria, junto con ausencia de demencia.

La aplicación de las técnicas de resonancia magnética (RM) en sus vertientes estructural y funcional también ha aportado información relevante que ha contribuido a un mejor conocimiento de la fisiopatología de la EA y del DCL.

Los estudios de RM estructural, especialmente tras la aparición de las nuevas metodologías de análisis de imagen automatizada, han permitido obtener un 'mapa' completo cerebral del grado de afectación tanto de la sustancia gris como de la sustancia blanca en la EA, así como evidenciar que el DCL, especialmente en su variante amnésica, presenta en ocasiones unas características morfológicas cerebrales similares a las descritas en las etapas iniciales de la EA.

Por su parte, en los años recientes se ha venido utilizando de forma creciente la RM funcional (RMf), que permite estudiar cambios hemodinámicos asociados con el funcionamiento neuronal con gran versatilidad, bien en reposo o mientras se está procesando información cognitiva. Esta aplicación de la RM ha permitido establecer características diferenciales del funcionamiento del cerebro en este tipo de pacientes respecto a personas sanas, incluyendo la existencia de mecanismos compensatorios cerebrales en los estadios

iniciales de la enfermedad. También debe destacarse la publicación de trabajos longitudinales, tanto por lo que se refiere a los análisis morfométricos como por algunos hallazgos recientes en RMf. Estos estudios están permitiendo identificar medidas (atrofia o patrones de activación) que constituyen factores de riesgo para la conversión hacia la demencia en el caso del DCL-a o para una mayor progresión clínica en la EA. Finalmente, en los últimos años se ha empezado a utilizar la RM (estructural y funcional) como marcador sensible a los efectos de las manipulaciones en este tipo de pacientes. Los datos aportados, indican que la RM es sensible tanto a detectar cambios de tipo sintomático como a revelar modificaciones más a largo plazo.

Con la finalidad de ahondar en la comprensión de los mecanismos cerebrales observados en la demencia y en su fase prodrómica, actualmente es un área de máximo interés en investigación en neurociencia el estudio de las características cerebrales que confieren a determinadas personas una resistencia a la manifestación del daño cerebral asociado al envejecimiento o a los estadios iniciales de la demencia, ya que si se consiguen comprender los mecanismos específicos, podrán mejorarse las estrategias dirigidas a paliar el impacto del deterioro cognitivo en la edad avanzada.

En la literatura especializada, se han definido un conjunto de variables que parecen tener un claro efecto sobre la manifestación de síntomas clínicos y sobre el estado del cerebro. Parte de estas variables personales y educativas han sido conceptualizadas dentro del constructo de la reserva cognitiva o reserva cerebral (RC) (Stern 2002; Stern 2009). Medida conductualmente, la RC refleja el grado de implicación en actividades de tipo cognitivo o intelectual, social y física a lo largo de la vida de las personas (Stern, 2007). Distintos trabajos de corte epidemiológico han demostrado que índices altos de RC representan un factor protector para la manifestación de la demencia.

Los estudios más conocidos dirigidos a investigar los mecanismos cerebrales subyacentes a los índices de RC lo conforman las publicaciones derivadas del 'estudio de las monjas', con centenares de participantes evaluados cognitivamente y clínicamente de forma anual y con donación de sus cerebros en el momento de su muerte. Estos trabajos demostraron que especialmente para los grupos más educados (o con mayores índices de RC), no existía una relación directa entre el grado de neuropatología en exámenes postmortem y la expresión clínica de la demencia en vida de los pacientes (Katzman y col., 1988). En este sentido, las personas con más educación, a pesar de presentar un daño más extenso en cuanto a patología propia de la EA (estadios avanzados de Braak y Braak), presentaban altos rendimientos en evaluaciones clínicas y cognitivas (Snowdon y col., 2003). A nivel morfológico estos pacientes

se caracterizan por tener mayores volúmenes cerebrales totales (Katzman y col., 1988) y de áreas específicas como el hipocampo (Erten-Lyons y col., 2009, Valenzuela, 2008).

La introducción de las técnicas de neuroimagen estructural y funcional en el campo del estudio de la RC también ha aportado información muy valiosa. Un número creciente de trabajos, avalan que las variables de RC ejercen una influencia tanto sobre la estructura como la función cerebral medidas con técnicas de neuroimagen avanzadas, tanto en el envejecimiento sano, como en los estadios iniciales de la EA. Yaakov Stern (2002, 2003), el principal teórico de la RC, se ha basado en la información proporcionada por estas técnicas de neuroimagen para proponer su modelo que explica los mecanismos estructurales y funcionales cerebrales asociados a la RC en el envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer (EA). Su modelo, que recoge la evidencia científica de otros grupos y la propia, define un primer 'componente o hipótesis pasiva' de la RC y una 'hipótesis activa o funcional'.

El primero de ellos hace referencia a la influencia de las estructuras cerebrales y al número de neuronas o contacto sináptico entre ellas, es decir a los correlatos morfológicos cerebrales, en el sentido de que aspectos como el volumen cerebral total o regional conferirían la base anatómica subyacente a la RC, mientras que el componente activo considera la eficiencia del procesamiento sináptico o de las redes neurales o la capacidad de la utilización de redes cerebrales alternativas que permitiría seguir funcionando a un determinado nivel clínico o cognitivo ante el avance de una determinada patología cerebral. Un número creciente de trabajos avalan que las variables de RC ejercen una influencia tanto sobre la estructura como la función cerebral medidas con técnicas de neuroimagen avanzadas, tanto en el envejecimiento sano, como en los estadios iniciales de la EA.

Varios estudios han demostrado que los individuos con mayor RC presentan un riesgo reducido de presentar demencia, pero a su vez muestran unas tasas de progresión más rápidas una vez que el diagnóstico clínico de EA está presente. Nuestro grupo ha investigado los correlatos neuroanatómicos y neurofuncionales de la RC en los ancianos normales, los pacientes con DCL y pacientes con EA leve (Solé-Padullés y col., 2009; Bartrés-Faz y col., 2009). Y observamos que el aumento de la RC estaba relacionado con un volumen cerebral mayor y menor actividad durante el procesamiento cognitivo en los ancianos sanos, lo que sugiere un uso más eficaz de las redes cerebrales. Sin embargo, el aumento de la RC se asoció con un volumen cerebral reducido en DCL y EA lo que interpretamos como un estadio neuropatológico más avanzado. El funcionamiento cognitivo en estos sujetos con RC más elevada se puede explicar por

mecanismos de compensación tanto estructurales(reflejados en el volumen cerebral) como funcionales (reflejados en la RM funcional).

A pesar de que existen distintos trabajos que estudian los efectos de las variables de RC sobre la estructura y la función cerebral, son escasos los estudios que evalúan la relación entre las variables de reserva cognitiva, la estructura y el funcionamiento cerebral en pacientes con EA y aún menos en pacientes en fases prodrómicas de la enfermedad como son los casos con deterioro cognitivo leve (DCL), así, el nivel de conocimiento científico generado en este campo es todavía muy parcial.

## **OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

Este proyecto de tesis doctoral se centra en el estudio de los correlatos estructurales y funcionales de la reserva cerebral o reserva cognitiva (RC) mediante RM en envejecimiento sano y patológico (DCL-a y estadios iniciales de la demencia tipo Alzheimer).

La razón para centrarse en estos tres grupos se basa en el interés por explorar como la RC permite a los individuos hacer frente al daño fisiológico y patológico, cuando se evoluciona de cerebros normales mayores a cerebros de pacientes que presentan un deterioro cognitivo leve o etapas iniciales de la demencia.

### **ESTUDIO I: Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance**

- Investigar las áreas que experimentan cambios en la AF en el envejecimiento 'fisiológico' y 'patológico' para posteriormente (estudio II) ver si existen correlatos diferenciales con la Reserva Cognitiva.
- Estudiar los cambios de los distintos índices en las áreas que experimentan cambios tanto el envejecimiento 'fisiológico' cómo el envejecimiento 'patológico'.
- Estudiar el significado clínico de estos cambios.

HIPOTESIS:

Los pacientes con DCL-a y EA mostraran diferencias en la integridad de la SB respecto al grupo control. Las diferencias observadas podrían comportarse como buenos marcadores del estado clínico y cognitivo en DCL-a y EA.

**ESTUDIO II: Specific anatomical associations between white matter integrity and cognitive reserve in normal and cognitively impaired elders**

- Investigar la relación entre las variables de RC y la integridad de la sustancia blanca.
- Investigar si existe una especificidad anatómica para esta asociación (relación RC y SB) cuando se considera el envejecimiento sano vs. el envejecimiento patológico, partiendo de las áreas identificadas en el Estudio I.

HIPOTESIS:

Las variables de RC se asociaran a la integridad de la de SB tanto en envejecimiento sano como patológico, generando una mayor tolerancia a su daño. La RC generará una mayor resistencia frente al daño de SB, minimizando las manifestaciones cognitivas; pudiendo existir una especificidad anatómica en envejecimiento normal y patológico en distintas áreas cerebrales.

**Estudio III: Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease**

- Estudiar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de tipo pasivo, preservada en los pacientes.

HIPOTESIS:

La reorganización funcional asociada a la RC acontecerá incluso a funciones cognitivas preservadas clínicamente.

La RC modulará las desactivaciones de la DMN.

**ESTUDIO IV: Greater default-mode network abnormalities compared to high order visual processing systems in amnesic MCI. An integrated multi-modal MRI study.**

- Investigar mediante RMf si existe disfunción de activación o desactivación en la red cerebral que subyace al procesamiento visual complejo en pacientes con DCL-amnésico.
- Caracterizar, a través de una aproximación multimodal de RMf, observando la atrofia cortical y la integridad de SB, la relación entre los cambios funcionales y estructurales en el DCL-a.
- Investigar el papel de la RC sobre los cambios observados en una red funcional clínicamente preservada.

#### HIPOTESIS:

Los cambios funcionales observados en el DMN serán de mayor magnitud que los detectados durante la realización de una tarea preservada. La RC es capaz de modular estos cambios.

#### METODOLOGÍA

La presente tesis consiste en cuatro estudios que se centran en investigar las bases neuroanatómicas y neurofuncionales de la RC mediante RM en el envejecimiento sano y patológico.

Para la realización de los estudios se ha utilizado una muestra y diversas aproximaciones neuropsicológicas y de resonancia magnética. Todos los estudios fueron aprobados por el Comité Ético del Hospital Clínico de Barcelona y todos los participantes firmaron el consentimiento informado previamente.

Los pacientes incluidos en los distintos estudios fueron reclutados de forma prospectiva desde la Unidad de Alzheimer y otros trastornos cognitivos, del Servicio de Neurología, del Hospital Clínic de Barcelona. Los sujetos control eran acompañantes cognitivamente sanos de los pacientes de la unidad.

**La muestra** estaba formada por sujetos sanos, pacientes con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCL-a) (la memoria era el único dominio afectado, actividades de la vida diaria (ADL) preservadas) y pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer en estadio inicial (EA, NINCDS-ADRD, GDS=4.).

Los sujetos sanos no cumplían criterios de demencia, y no presentaban quejas de tipo cognitivo. Además, no mostraban una ejecución inferior a -1.5 DS en el test de memoria episódica, mientras que, en cuanto a las funciones cognitivas, se encontraban entre los límites adecuados para edad y nivel educativo. DCL-a la memoria era el único dominio afectado, puntuaciones por debajo de -1,5 DE en una prueba de memoria episódica (prueba de recuperación a largo plazo de la FCRST: libre y con pistas semánticas), tal y como se define por el hecho que sus funciones cognitivas restantes y las actividades de la vida diaria dentro del rango de la normalidad de acuerdo con las puntuaciones obtenidas en el Functional Activities Questionnaire (FAQ, Pfeffer et al., 1982).

Junto con el juicio clínico del neurólogo, la **exploración neuropsicológica** desempeñó un papel relevante en la clasificación de los sujetos y permitió realizar el diagnóstico diferencial entre pacientes con DCL-a y EA.

A todos los sujetos se les administró una batería de pruebas neuropsicológicas para establecer el grado de déficit cognitivo y el número de áreas afectadas que presentaban los pacientes y determinar si estos cumplían los criterios de inclusión para los distintos estudios. La batería incluía pruebas de memoria, lenguaje, praxias, percepción visual, funciones ejecutivas frontales y atención (Lezak y col., 2004) y además se recogieron datos sociodemográficos. En todos los casos posibles se utilizaron pruebas neuropsicológicas validadas que disponen de una normalización en población sana y que permiten situar al sujeto en relación con su grupo de edad y nivel de escolaridad para conseguir homogeneizar el grupo de pacientes con DCL-a.

**Las imágenes de RM** de los cuatro estudios se adquirieron en el Centre de Diagnòstic per la Imatge (CDIC), del Hospital Clínic de Barcelona. Las imágenes potenciadas en T1, de DTI y de resonancia magnética funcional fueron obtenidas en una resonancia de 3tesla. La resonancia magnética funcional se llevó a cabo aplicando un paradigma de comprensión del lenguaje y otro de procesamiento visual complejo.

**Las técnicas de neuroimagen** empleadas en cada uno de los estudios fueron las siguientes:

l) técnica de “vóxel-based morphometry” (VBM) para evaluar las diferencias volumétricas y/o de densidad de sustancia gris. El procesamiento de las imágenes se realizó mediante el software SPM5 (Statistic Parametric Mapping, Wellcome Department of Cognitive Neurology, University College of London, UK, (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>) con Matlab 7.0 (Math

Works, Natick, MA), II) técnica de “Tract-Based Spatial Statistics” (TBSS) para analizar las imágenes de DTI y evaluar las diferencias de anisotropía de la sustancia blanca mediante el software FSL (FMRIB’s Software Library, <http://fmrib.ox.ac.uk/fsl/fsl/>), III) para el estudio de las imágenes obtenidas por resonancia magnética funcional utilizamos dos herramientas (SPM5 ) y una herramienta basada en el análisis de componentes independientes para el FSL que se conoce como “Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components” (MELODIC) con la cual se consigue una descomposición de los datos en variaciones dependientes del tiempo, del espacio y de los sujetos; proporcionando más datos que aquellos que se pueden extraer mediante el análisis clásico de RM funcional mediante análisis de modelo lineal general.

Las técnicas de neuroimagen funcional (RMf) fueron escogidas para investigar cómo trabaja el cerebro, a partir de la respuesta hemodinámica de éste. Igualmente escogimos la técnica multivariante del análisis de la coherencia para identificar redes de conectividad funcional. Finalmente las variables de reserva cognitiva cuantificadas y relacionadas con los patrones de actividad y la estructura cerebral en muestras de envejecimiento patológico (DCL-a y EA) y no patológico para estudiar en qué medida determinada carga de RC puede afectar en el funcionamiento y el grado de atrofia de éste en las distintas condiciones clínicas de envejecimiento normal y patológico citadas anteriormente.

Además, cada uno de los estudios cuenta con una descripción detallada de las características de las muestras, la metodología de análisis de las imágenes obtenidas por RM y las evaluaciones cognitivas y conductuales llevadas a cabo.

## **RESULTADOS**

### **ESTUDIO I: Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance**

En este primer estudio se evidencia un decremento de anisotropía fraccional (AF) en áreas posteriores en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve. Interesantemente, la mayoría de regiones que muestran reducción de AF corresponden con áreas donde se incrementa la difusividad radial (DR) y la difusividad media (DM), mientras los cambios de difusividad axial (DA) son menos prominentes y más específicos para esta patología (EA).

No se encuentran diferencias regionales en comparación con los ancianos sanos o pacientes con EA al considerar el índice de AF como una ‘medida resumen’ de integridad de



sustancia blanca. No obstante, fue posible identificar reducción de valores medios de AF en el DCL-a en las mismas regiones dónde los pacientes con EA presentan disminución de AF. Estos hallazgos se confirman, también, con el análisis global de todo el cerebro estudiando la difusividad radial, dónde se observan incrementos significativos de DR en pacientes con DCL-a en clara correspondencia anatómica con regiones dónde también hubo incremento de DR en EA.

Cabe destacar, sin embargo, que las únicas diferencias de difusión que prevalecen ajustando por atrofia de SG son los cambios de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en partes posteriores del fascículo inferior frontooccipital y longitudinal en DCL-a.

Además, en este estudio, restringiendo los análisis a los grupos de pacientes, únicamente los valores de AF mostraron relación significativa con la 'ejecución de la memoria', evidenciando que el daño microestructural de SB reflejado con el índice de AF presenta buena correspondencia con los síntomas cognitivos predominantes de estos pacientes. Además, se observan correlaciones negativas no significativas estadísticamente, pero en la dirección esperada, para los valores de DM.

## **ESTUDIO II: Specific anatomical associations between white matter integrity and cognitive reserve in normal and cognitively impaired elders**

En este segundo estudio se objetiva que la integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, en el hemisferio derecho, así como en el genum del cuerpo callosos, en el cingulado y en los fascículos longitudinales superior e inferior mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores, principalmente en áreas del hemisferio posterior izquierdo, del fascículo uncinado y de los haces frontoccipitales y cingulado. La media de los valores de AF para el grupo de pacientes con DCL-a también fue inferior que en los ancianos sanos.

Una vez caracterizadas las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano y patológico se estudió si existía relación entre la integridad e la sustancia blanca y la RC. Los resultados muestran asociaciones inversas entre la RC y los parámetros estructurales derivados de la RM, específicamente en la microestructura de SB.

Igualmente se investigó si existía especificidad anatómica para la asociación entre RC y SB en zonas que presentan compromiso relacionado con la edad, así como en regiones que se dan cambios patológicos. Se evidencia que esta asociación se implementa en distintas regiones cerebrales según se considere envejecimiento sano o patológico. Los sujetos control mostraron una correlación más negativa entre RC e integridad de SB que DCL-a y EA. Así, la influencia de la RC, en envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma fisiológica con la edad, mientras que en los pacientes con DCL-a la misma asociación negativa se observa en regiones con afectación patológica

Se realizó el seguimiento a dos años de los pacientes con DCL-a, se encontró que todos los pacientes que convirtieron a EA obtuvieron puntuaciones elevadas de RC.

### **Estudio III: Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease**

En este estudio se plantea investigar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de comprensión del lenguaje de tipo pasivo, preservada en los pacientes con DCL-a y EA en fase inicial.

Si bien, tanto los pacientes como los controles mostraron una ejecución similar en la prueba de comprensión del lenguaje durante la exploración neuropsicológica, durante la ejecución de la tarea dentro de la RM, en los pacientes se observó una correlación positiva entre las medidas de RC y la respuesta BOLD en áreas directamente implicadas en el procesamiento del lenguaje, así como una mayor desactivación en regiones de la DMN. Tanto los DCL-a como los pacientes con EA, mostraron una correlación negativa entre RC y actividad cerebral en áreas de desactivación inducidas por la tarea.

Estas relaciones se invirtieron en sujetos sanos. Para estos sujetos, una alta RC se relacionó con una reducción de la actividad en áreas implicadas en el procesamiento de comprensión lingüística. Igualmente, en sujetos sanos, una alta RC se relaciona con menos desactivaciones del DMN.

Cabe señalar, sin embargo, que no se pudo demostrar que estos cambios funcionales se relacionaran con atrofia cerebral.

**ESTUDIO IV: Greater default-mode network abnormalities compared to high order visual processing systems in amnesic MCI. An integrated multi-modal MRI study.**

**Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuo-perceptive network among a-MCI.**

Se realizó un estudio multimodal (mediante resonancia magnética estructural, funcional y de difusión) en el que se caracterizó las redes funcionales y estructurales implicadas en una tarea de procesamiento visual complejo, en pacientes con DCL-a y CTR. Para realizar este análisis integral se examinó la conectividad funcional, la volumetría de la SG así como la tractografía probabilística de la SB. Además, se estudió la implementación de la RC en estas redes aisladas para esta tarea clínicamente preservada en los dos grupos.

El análisis de los componentes de las imágenes de RMf identificó dos redes anatomofuncionales en el componente principal relacionadas con la tarea (una red que constituye el patrón de activación y una red relacionada con el patrón de desactivación de regiones cerebrales). La activación (ATRP) correspondía principalmente a áreas parietales, temporales y occipitales y en menor medida a regiones frontales.

La tarea también estaba relacionada con la activación de ciertas regiones cerebrales, durante el 'patrón de activación por reposo', que coincidían con regiones implicadas en la red conocida como *default network* (Buckner, y col., 2008).

En las comparaciones grupales para la red de activación los pacientes con DCL-a mostraron una mayor activación en áreas ventrales-occipitales inferiores implicadas en la tarea visual en comparación con los controles. Sin embargo, no se observaron diferencias de SB y SG dentro de la red de ATRP para este grupo. Por otro lado, los pacientes no sólo mostraban anomalías funcionales en algunas regiones corticales del sistema visual sino que también mostraron una desactivación menor de áreas posteromediales que los controles en áreas implicadas en el 'default mode network'. Además, a partir del análisis de la información aportada por la RMf pudimos observar atrofia cortical en el córtex cingulado posterior y precuneus como sustrato anatómico de los déficit de desactivación, junto con una excesiva desactivación del lóbulo parietal inferior y compromiso de la SB en la corteza cingulada (callosa), una vía identificada como una de las principales en la red estructural de la DMN en estudios anteriores. Sin embargo, aunque los pacientes presentaban mayor activación de redes funcionales implicadas en la tarea y reducida desactivación de la red que se supone

que debería permanecer suspendida durante la ejecución de dicha tarea, los pacientes con DCL-a mostraron un desempeño de la tarea parecido al de los controles.

Se encontró relación entre estructura, función y rendimiento únicamente en las medidas relacionadas con el 'patrón de activación por reposo' (DTRP) en controles sanos.

Posteriormente estudiamos el impacto de las variables de RC en el DCL-a sobre la red funcional clínicamente preservada. En sujetos sanos no se encontró relación significativa entre las variables de RC y las medidas anatomofuncionales relacionadas con la tarea. Sin embargo, los pacientes con DCL-a con niveles de RC más altos presentaban mayor activación de la red funcional. Curiosamente, los mismos pacientes presentaban mayor atrofia de SG en las áreas del DMN y mostraron correlaciones negativas entre las variables de RC e integridad de las fibras de sustancia blanca relacionadas con la tarea.

## DISCUSIÓN GENERAL

La presente tesis está dirigida a investigar los correlatos neuroanatómicos y neurofuncionales de la reserva cognitiva o cerebral en CTR, DCL-a y EA, para ello diseñamos una serie de estudios clínicos con medidas de resonancia estructural y funcional.

En el **primer estudio** se describen las áreas que experimentan cambio en la AF tanto en el envejecimiento fisiológico como en el patológico, así como los cambios específicos a los distintos índices de SB (AF, DA, DR y DM).

En este sentido se evidencia un decremento de AF en áreas posteriores en pacientes con enfermedad de Alzheimer leve. Estos hallazgos aportan más pruebas a las observaciones recientes con metodologías de procesamiento de datos de DTI equivalentes (Acosta-Cabronero y col., 2009; Damoiseaux y col., 2009; Salat y col., 2010; Stricker y col., 2009). En particular, destacar el compromiso del fascículo uncinado en pacientes con EA, de acuerdo con trabajos basados en TBBS (Damoiseaux y col., 2009, ver los resultados sin corregir TBSS de Liu y col., 2009), tractografía (Kiuchi y col., 2009), y estudios con ROIs (al Taoka y col., 2006; Yasmin y col., 2008). Interesantemente, la mayoría de regiones que muestran reducción de AF corresponden con áreas donde se incrementa la DR y la DM, mientras los cambios de difusividad en DA son menos prominentes y más específicos para esta patología. (EA).

De acuerdo con un estudio previo utilizando el mismo enfoque de voxel a voxel en pacientes con DCL-a (Damoiseaux et al., 2009), no encontramos diferencias regionales en comparación con los ancianos sanos o pacientes con EA al considerar el índice de AF como una

‘medida resumen’ de integridad de sustancia blanca. No obstante, fue posible identificar reducción de valores medios de AF en el DCL-a en las mismas regiones dónde los pacientes con EA presentan disminución de AF, en la línea de los estudios anteriores (Bai y col., 2009; Fellgiebel y col., 2005; Medina y col., 2006; Rose y col., 2006; Wang y col., 2009; Zhang y col., 2007), sugiriendo un compromiso incipiente de tractos de SB en regiones posteriores críticas en la EA. Estos hallazgos se confirman, también, con el análisis global de todo el cerebro estudiando la difusividad radial, dónde se observan incrementos significativos de DR en pacientes con DCL-a en clara correspondencia anatómica con regiones dónde también hubo incremento de DR en EA.

Estos resultados, revelan un compromiso específico de los distintos índices de DTI en DCL-a y EA (Huang y col., 2007; Salat y col., 2010) y sugieren que la mayoría de los cambios probablemente están directamente relacionados con la atrofia subyacente de SG. Cabe destacar, no obstante pero, que las únicas diferencias de difusión que prevalecen ajustando por atrofia de SG son los cambios de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en partes posteriores del fascículo inferior frontooccipital y longitudinal en DCL-a, que puede reflejar compromiso incipiente de SB en estos pacientes predementes.

La interpretación de estos datos de difusión es compleja. Sin embargo, hay posiblemente dos principales mecanismos que explican los resultados de DTI en el envejecimiento y en la demencia. En primer lugar, los cambios de SB pueden estar directamente relacionados con el proceso neurodegenerativo (Alexander y col., 2007; Basser y Pierpaoli., 1996; Beaulieu, 2002; Chalmers y col., 2005; Damoiseaux y col. , 2009; Davis y col., 2009; Duan y col., 2006; Fellgiebel y col., 2008; Harsan y col., 2006; Huang y Auchus., 2007; Smith y col., 2007; Song y col., 2005; Xie y col., 2006; Zhang y col., 2007, 2008) y en segundo lugar, se ha propuesto la vaina de mielina como lugar de la lesión primaria en el envejecimiento normal y los pacientes con demencia (Wallin et al. 1989).

Nuestros resultados apoyan claramente que los cambios SB observados en los pacientes están íntimamente relacionados con la atrofia cerebral. Pero, cabe destacar el hecho de que la SB esté comprometida principalmete en áreas de asociación (es decir, unciforme), límbicas (cíngulo) y en las vías comisurales (rodete del cuerpo calloso), de acuerdo con la topografía predicha por la hipótesis de la retrogenesis, donde las fibras de asociación de sustancia blanca, mielinizadas en último lugar, son las más comprometidas en estadios iniciales

de la demencia, en comparación con las primeras fibras mielinizadas (Stricker y col., 2009), puede reflejar compromiso incipiente de SB, en estos pacientes, apoyando este modelo.

En general, estas observaciones, sugieren la posible coexistencia de daño relacionado con un compromiso de mielina junto con daño axonal principalmente secundario a la atrofia de estructuras temporales.

Parece que en fases prodrómicas de demencia la información suministrada por los mapas de DR puede ser útil para diferenciar el compromiso de SB en regiones posteriores no relacionadas con atrofia de SG, proporcionando información sobre alteraciones de AF en el curso de la enfermedad.

Además, en este estudio, restringiendo los análisis a los grupos de pacientes, únicamente los valores de AF mostraron relación significativa con la 'ejecución de la memoria', evidenciando que el daño microestructural de SB reflejado con el índice de AF presenta una buena correspondencia con los síntomas cognitivos predominantes de estos pacientes. Además, se observan correlaciones negativas no significativas estadísticamente, pero en la dirección esperada, para los valores de DM. Así los hallazgos muestran que las medidas globales, reflejadas por índices que integran diversa información, anisotropía fraccional (AF) y difusividad media (DM), parecen estar más estrechamente relacionadas con el perfil cognitivo de nuestros pacientes que los índices que reflejan el movimiento del agua en paralelo (DA) y perpendicular (DR) a la dirección de la difusión primaria.

A continuación, en el **estudio II** investigamos la relación entre las variables de RC y la integridad de la SB en CTR, DCL-a y EA. Para ello en primer lugar estudiamos el patrón de cambios de AF que se da en la edad avanzada y en el deterioro cognitivo, partiendo de las áreas de cambio de AF en envejecimiento patológico identificadas en el estudio I. Esta vez añadiendo un grupo de sujetos sanos jóvenes, que permitieron aislar las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano. Se objetiva que la integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores. La media de los valores de AF para el grupo de pacientes con DCL-a también fue inferior que en los ancianos sanos sugiriendo daño incipiente de SB.

Una vez caracterizadas las áreas de cambio de SB en envejecimiento sano y patológico estudiamos si existía relación entre la integridad e la sustancia blanca y la RC. Hasta dónde

sabemos, nuestro estudio proporciona la primera evidencia de asociación entre integridad de SB y variables de RC en una muestra de sujetos sanos y patológicos.

En ancianos sanos, encontramos los primeros estudios de correlación entre estructura cerebral y variables de RC encontraron resultados inconsistentes, tanto positivos (Solé-Padullés y col., 2009; Colcombe y col., 2003; Gordon y col., 2008; Teipel y col., 2009; Bartrés-Faz y col., 2009; Valenzuela y col., 2008) como negativos (Nebes y col., 2006; Querbes y col., 2009). Nuestro estudio muestra asociaciones inversas entre la RC y los parámetros estructurales derivados de la RM, específicamente en la microestructura de SB.

En términos de la RC, se interpreta que asociaciones positivas entre RC y mediciones morfométricas podrían reflejar un efecto 'neuroprotector' de la RC (Valenzuela y col., 2008). Por el contrario, las asociaciones negativas probablemente reflejen que los individuos con altos índices de RC pueden tolerar mayor grado de carga cerebral, relacionada con la edad, en áreas específicas del cerebro, mientras que a la vez permite mantener de forma óptima la capacidad cognitiva o funcional, sugiriendo un aumento de recursos compensatorios.

Igualmente estudiamos si existe una especificidad anatómica para la asociación entre RC y SB. Se evidencia que esta asociación se implementa en distintas regiones cerebrales según se considere envejecimiento sano o patológico. Los sujetos control mostraron una correlación más negativa entre RC e integridad de SB que DCL-a y EA. Así, la influencia de la RC, en envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma fisiológica con la edad, pudiendo proporcionar mayor capacidad para tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, mientras que en los pacientes con DCL-a la misma asociación negativa se observa en regiones con afectación patológica, sugiriendo mayor resistencia a la manifestación clínica de la patología.

Realizamos el seguimiento a dos años de los pacientes con DCL-a, y aunque los resultados longitudinales deben ser interpretados con precaución debido a la reducida muestra de pacientes con DCL-a, encontramos que todos los pacientes que convirtieron a EA obtuvieron puntuaciones elevadas de RC, lo que sugiere un vínculo entre la integridad de SB y el riesgo de progresión a EA. En el DCL-a la asociación entre RC y integridad de SB puede reflejar una mayor capacidad para hacer frente a daño cerebral incipiente. Conceptualmente, estas observaciones recuerdan la teoría del umbral crítico de vulnerabilidad del cerebro, que podría prolongar la fase 'prodrómica' en pacientes con altos valores de RC hasta que llega a un determinado nivel de patología cerebral (Satz, 1993). Cuando se sobrepasa el umbral, la

vulnerabilidad al daño cerebral parece ser inevitable y aparecen los déficits clínicos y funcionales, lo que representa un avance más rápido de la demencia en estos pacientes (Scarmeas y col., 2003).

Los hallazgos de los dos estudios previos abordan alteraciones estructurales en sujetos sanos y patológicos y la relación con la RC. Sin embargo, son conocidos los correlatos neurofuncionales de la RC, normalmente estudiados durante la realización de tareas de memoria, y más recientemente en otras funciones cognitivas y en reposo. Además de los déficits estructurales es sabido que los pacientes con DCL-a y EA presentan déficits funcionales que junto con los anteriores influyen en la cognición.

Así, nuestro interés de investigación no se reduce a la relación de la RC con los cambios estructurales del cerebro. Por ello en el estudio III se plantea investigar cómo la RC modula las activaciones y desactivaciones cerebrales durante una tarea cognitiva de comprensión del lenguaje de tipo pasivo, preservada en los pacientes con DCL-a y EA en fase inicial.

Si bien, tanto los pacientes como los controles mostraron una ejecución similar en la prueba de comprensión del lenguaje durante la exploración neuropsicológica, durante la ejecución de la tarea dentro de la RM, en los pacientes se observó una correlación positiva entre las medidas de RC y la respuesta BOLD en áreas directamente implicadas en el procesamiento del lenguaje, así como una mayor desactivación en regiones de la DMN. Tanto los DCL-a como los pacientes con EA, mostraron una correlación negativa entre RC y actividad cerebral en áreas de desactivación inducidas por la tarea. Conociendo que, la actividad de los procesos que se dan en el resting-state es especialmente evidente durante la realización de una tarea de alta demanda cognitiva, es posible hipotetizar que la tarea cognitiva utilizada aquí es más desafiante para los pacientes con alta RC. Así, tanto los incrementos en las activaciones y las desactivaciones inducidas por la tarea, podrían reflejar una mayor capacidad de reasignación de recursos. Hallazgos previos en sujetos sanos (Daselaar y col., 2004; Rombouts y col., 2005; Persson y col., 2007; Andrews-Hanna y col., 2007) y en pacientes con DCL-a y EA (Celone y col., 2006) evidenciaron que mayores desactivaciones en áreas de la DMN estaban relacionadas con mejor rendimiento cognitivo.

A pesar de ser medidas indirectas, estas asociaciones entre cambios de actividad cerebral relacionada con la RC y el rendimiento en la comprensión del lenguaje, indican, de nuevo, una reorganización funcional cerebral temprana y aumento de los recursos compensatorios en pacientes con alta RC.



Los hallazgos de este estudio proporcionan evidencia de que las reorganizaciones neurofuncionales relacionadas con la RC en DCL-a y en los pacientes con EA se pueden ver incluso si se considera un dominio clínicamente no afectado a nivel cognitivo.

Estas relaciones se invirtieron en sujetos sanos. Para estos sujetos, una alta RC se relacionó con una reducción de la actividad en áreas implicadas en el procesamiento de comprensión lingüística. Estos resultados sugieren un incremento de la eficiencia neural (Stern, 2007) reduciendo así, el número de áreas cerebrales implicadas y evidencian que la implementación neurofuncional de la reserva cognitiva ya está también trabajando en demandas cognitivas de baja exigencia.

Igualmente, en sujetos sanos, una alta RC se relaciona con menos desactivaciones del DMN. Basándonos en la literatura previa (Grecius y col., 2003, 2004), el hecho de que los pacientes sanos con alta RC muestren una menor suspensión de la DMN, reflejaría que en este grupo con recursos funcionales más eficientes, la tarea fue procesada más automáticamente o con más facilidad. En resumen, para los sujetos sanos, el incremento de la eficiencia neural fue asociada con RC como se revela en la RMf, pareciendo incluir tanto un menor reclutamiento de áreas de activación, como una reducida supresión de la DMN.

Por lo tanto, en el III estudio, se evidencia que la RC modula no sólo los patrones de activación cerebral, sino también las regiones que presentan desactivaciones durante tareas cognitivas, específicamente las áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto' (default network of brain activity). En concreto, los pacientes con EA y alta RC presentan mayores desactivaciones de estas áreas sugiriendo un funcionamiento cerebral más próximo a la normalidad, ya que un déficit en su desactivación incrementa el riesgo de padecer enfermedad (Buckner y col., 2008).

Cabe señalar, sin embargo, que no se pudo demostrar que esta reorganización funcional y uso más efectivo de las redes cerebrales se relacionara con aumento de atrofia cerebral. Estos hallazgos son inesperados y contraintuitivos respecto a la hipótesis de RC, la cual, predice que las compensaciones funcionales en pacientes con EA son un resultado de un mayor daño cerebral.

Estos resultados, refuerzan la idea de que las reorganizaciones funcionales relativas a la RC están implementadas más allá de las diferencias estructurales, incluso en estadios tempranos de deterioro cognitivo y enfermedad de Alzheimer. Es posible que, la tarea de baja demanda cognitiva y/o el hecho de que evaluemos un dominio cognitivo no afectado excluya

la posibilidad de identificar asociaciones función/estructura. De forma alternativa, la atrofia de sustancia gris podría no ser el correlato estructural cerebral más sensible asociado con las reorganizaciones funcionales observadas. Hallazgos recientes, utilizando resting-state en RMf (Andrews-Hanna y col., 2007) y desactivaciones inducidas por la tarea (Greicius y col., 2009) demuestran que las interrupciones de la DMN están asociadas con la integridad de la sustancia blanca, como ha sido revelado con el análisis por tensor de difusión.

Con todo esto, los previos y actuales resultados, en los que la relación entre la SB y la RC está explicando parte de la capacidad para afrontar daño en el envejecimiento normal y patológico y que la función cerebral también es sensible para reflejar diferencias individuales en función de la RC, dejan entrever la necesidad de realizar más estudios para investigar el rol preciso de la integridad de los tractos de sustancia blanca como un correlato morfológico más sensible correlacionado con la RC y sus relaciones con cambios funcionales en sujetos sanos y pacientes.

Así, en base a los hallazgos previos, por último, en el estudio IV realizamos un estudio multimodal (mediante resonancia magnética estructural, funcional y de difusión) en el que caracterizamos las redes funcionales y estructurales implicadas en una tarea de procesamiento visual complejo, en pacientes con DCL-a y CTR. Para realizar este análisis integral examinamos la conectividad funcional, la volumetría de la SG así como la tractografía probabilística de la SB. Además, estudiamos la implementación de la RC en estas redes aisladas para esta tarea clínicamente preservada en los dos grupos.

El análisis de los componentes de las imágenes de RMf identificó dos redes anatomofuncionales en el componente principal relacionadas con la tarea: una red que constituye el patrón de activación y una red relacionada con el patrón de desactivación de regiones cerebrales. La activación (ATRP) correspondía principalmente a áreas parietales, temporales y occipitales y en menor medida a regiones frontales.

En general este patrón de activación se corresponde con los hallazgos descritos en estudios realizados con PET y RMf (Haxby y col., 1991 y 1994; Clarl y col., 1996; Grill-Spector, 2003; Corbetta y col., 1993) y el análisis topográfico de la red de ATRP sugiere que nuestra tarea incorpora componentes visuoperceptivos del sistema visual ventral (identificación de imágenes borrosas) y del sistema visual dorsal (seleccionar una imagen en una posición determinada en el espacio), así como áreas de integración para la información visual ya que la corteza prefrontal también está implicada en la tarea, corroborando los hallazgos de Bokde y

col., (2006) y Vannini y col., (2007) en pacientes con DCL en tareas visuoperceptivas y visuoespaciales respectivamente.

El análisis probabilístico de tractografía describe la implicación del fascículo longitudinal superior dorsal bilateral y del fascículo longitudinal inferior y ventral fronto-occipital, sólo en el hemisferio derecho, para la tarea de activación sugiriendo que la tarea implica más regiones dorsales que ventrales, corroborando, en general, los resultados de un estudio reciente realizado en sujetos jóvenes sanos, en el que identificaron las vías de SB basándose en las activaciones de RMf durante la realización de una tarea de atención visuoespacial (Umarova y col., 2009 y 2010).

La tarea también estaba relacionada con la activación de ciertas regiones cerebrales, durante el 'patrón de activación por reposo', que coincidían con regiones implicadas en la red conocida como *default network* (Buckner, y col., 2008).

En las comparaciones grupales para la red de activación los pacientes con DCL-a mostraron una mayor activación en áreas ventrales-occipitales inferiores implicadas en la tarea visual en comparación con los controles, lo que podría ser considerado como un mecanismo de compensación para poder ejecutar la tarea adecuadamente y suplir la incipiente disfunción del circuito de procesamiento visual (áreas dorsales más comprometidas). Sin embargo, no se observaron diferencias de SB y SG dentro de la red de ATRP para este grupo. Estos resultados están en la línea de trabajos previos de RMf en los que se mostraba que la reorganización funcional parece ser anterior a la marcada atrofia cerebral detectable por RM, un hallazgo que se ha demostrado en estudios de población en riesgo de demencia (Smith y col., 1999; Bookheimer y col., 2000; Bartrés-Faz y col., 2008). Así, aunque el estudio demuestra que los pacientes con DCL-a reclutan un patrón de activación funcional que se diferencia al de los controles, estos cambios funcionales no parecen corresponder al daño de regiones estructural de la red.

Por otro lado, los pacientes no sólo mostraban anomalías funcionales en algunas regiones corticales del sistema visual sino que también mostraron una desactivación menor de áreas posteromediales que los controles en áreas implicadas en el 'default mode network'. Además, a partir del análisis de la información aportada por la RMf pudimos observar atrofia cortical en el córtex cingulado posterior/precuneus como sustrato anatómico de los déficit de desactivación, junto con una excesiva desactivación del lóbulo parietal inferior y compromiso de la SB en la corteza cingulada (calloso), una vía identificada como una de las principales en la red estructural de la DMN en estudios anteriores, de acuerdo con los hallazgos de Qi y col.,

(2010), que reportaron las zonas de mayor señal en las regiones parietales en el contexto de la reducción de la actividad del PCC, y también son comparables con los de Bai y col., (2008).

Destacar que, aunque los pacientes presentaban mayor activación de redes funcionales implicadas en la tarea y reducida desactivación de la red, los pacientes con DCL-a mostraron un desempeño de la tarea parecido al de los controles. Los hallazgos permiten la identificación de reorganizaciones funcionales en la red cortical relacionada con la tarea en los DCL-a, tanto para las activaciones como para las desactivaciones, incluso cuando se considera un dominio cognitivo clínicamente preservado. Además, en las áreas implicadas en la red los pacientes muestran mayor afectación de SG junto con afectación de SB únicamente en áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto' (DTRP).

Las reorganizaciones funcionales que se observan en pacientes con DCL-a se interpretan como mecanismo de compensación ante afectación estructural. Parte de esta respuesta compensatoria parece estar modulada por la Reserva Cognitiva, ya que los pacientes con puntuaciones más altas de RC mostraron mayor alteración de la integridad de SB en los tractos implicados en la red funcional evaluada, junto con respuestas de RMf más sólidas, lo que sugiere, de nuevo, que la RC modula la actividad cerebral funcional para compensar los déficits estructurales que sirven de fundamento anatómico a la red de procesamiento visual complejo. Así, en fases prodrómicas de la demencia altos índices de RC aportan más recursos funcionales al cerebro que se utilizan para hacer frente a daño estructural más avanzado.

Este estudio además de permitir la identificación de reorganizaciones funcionales en la red cortical directamente relacionada con la tarea y con la RC, confirma hallazgos previos que indican que la investigación sobre el sistema visual utilizando RMf proporciona información relevante que refleja cambios tempranos en esta condición. Es importante remarcar que amplía los conocimientos previos ya que demuestra una disfunción cerebral, principalmente de vías dorsales reflejada por mecanismos compensatorios, en etapas en las que las funciones visuoperceptivas y visuoespaciales no están comprometidas clínicamente. Esta última observación refuerza la idea de que la RMf puede considerarse como un potencial marcador biológico de EA prodrómica.

También se detectó alteración funcional del DMN en áreas posteromediales, así como atrofia cortical del sustrato anatómico de estas zonas de desactivación. Igualmente, se observó compromiso de la sustancia blanca en el cíngulo. Estos resultados resaltan la importancia de realizar estudios multimodales de redes neuronales, integrando información de RMf, atrofia cortical e integridad de SB en DCL-a para detectar alteraciones incipientes (sobretudo en el

‘patrón de reposo por defecto’ o DMN). Por último, también es interesante observar, que la adaptación de la tarea cognitiva a la máquina de RMf y un enfoque multimodal permiten investigar el estado funcional y estructural de las principales redes relevantes del cerebro en fases prodrómica de la EA y reducir los problemas comunes asociados con tareas complejas tales como los niveles de ejecución muy pobre, o la incapacidad de comprender o realizar la tarea en una proporción de los pacientes.

## **CONCLUSIONES**

Las principales conclusiones de esta tesis, derivadas de los 4 estudios, se pueden resumir de la siguiente manera:

### **CONCLUSIONES ESTUDIO I:**

- La utilización de distintos índices de DTI permite identificar un patrón topográfico característicos de EA y DCL-a, en regiones posteriores, distinto al del envejecimiento sano.
- La mayoría de cambios están directamente relacionados con la atrofia subyacente de sustancia gris. Sin embargo, el incremento de señal de DM observados en áreas posteriores para DCL-a y EA junto con un aumento de DR en DCL-a, puede reflejar compromiso incipiente de SB en estos pacientes predementes, que es independiente de la atrofia de SG. Por la cual cosa señalan cambios intrínsecos de la SB en estas condiciones. Por lo tanto, los datos no solo confirman la hipótesis retrógrada sino también la desmielinización.
- Por último, las medidas globales reflejadas por índices que integran diversa información, AF y DM, parecen estar más estrechamente relacionada con el perfil cognitivo de nuestros pacientes que los índices que reflejan el movimiento de agua en paralelo (DA) y perpendicular (DR) a la dirección de difusión primaria.

### **CONCLUSIONES ESTUDIO II:**

- La integridad de la SB se reduce en regiones diferentes en el envejecimiento fisiológico y patológico. El envejecimiento normal se caracteriza por una pérdida de sustancia blanca principalmente en regiones anteriores del encéfalo, mientras que en los pacientes con EA el compromiso es mayor en regiones posteriores.

- Los valores de reserva cognitiva están relacionados con la integridad de la SB. En el envejecimiento sano, se encuentra en áreas que se afectan de forma fisiológica con la edad, proporcionando mayor capacidad para tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, mientras que en los pacientes con DCL-a la asociación se observa en regiones con afectación patológica, sugiriendo mayor resistencia a la manifestación clínica de la patología.
- Los sujetos con DCL y altas puntuaciones de RC presentan mayor riesgo de desarrollar EA durante un periodo de dos años de seguimiento, lo cual sugiere que el proceso neuropatológico está más avanzado.

#### **CONCLUSIONES ESTUDIO III:**

- Los índices de RC modulan las activaciones y desactivaciones cerebrales, y de modo opuesto al considerar ancianos vs pacientes, incluso cuando no hay evidencia de una relación entre la atrofia cerebral y la RC.
- Las reorganizaciones funcionales relacionadas con los índices de RC en los pacientes con DCL-a y EA respecto controles se observa incluso cuando se está considerando un dominio cognitivo clínicamente no afectado.
- Las reorganizaciones funcionales relacionadas con los índices de RC reflejan mecanismos de compensación.

#### **CONCLUSIONES ESTUDIO IV:**

- Existen reorganizaciones funcionales en la red cortical visuoperceptiva en sujetos con DCL-a, tanto para las activaciones como para las desactivaciones. Además, existe una afectación de SG en las áreas implicadas en la red, mientras que la SB se afecta únicamente en las áreas del denominado 'patrón de reposo por defecto'.
- Los estudios multimodales de redes neuronales, integrando información de RMf, atrofia cortical y integridad de SB, en DCL permiten detectar alteraciones incipientes, sobretodo en el 'patrón de reposo por defecto'.
- En fases prodrómicas de la demencia altos índices de RC aportan más recursos funcionales al cerebro que se utilizan para hacer frente a daño estructural más avanzado.

## **CONCLUSIÓN GENERAL:**

Los estudios descritos en esta tesis aportan evidencia de que el nivel de implicación a lo largo de la vida en actividades de tipo mental o intelectual, social y físico modula la estructura y función del cerebro.

En el envejecimiento sano, altos índices de RC, volumétricamente, se asocian con un cerebro más preservado, ya que existe una mayor preservación de la integridad de la SB. La alta RC también parece relacionarse con una mayor capacidad de tolerar cambios cerebrales propios del envejecimiento, sin que esto implique menor función cognitiva. Funcionalmente, se asocian con la utilización de menos recursos cerebrales durante el procesamiento de tareas cognitivas de comprensión lingüística y percepción visual compleja.

En la patología, altos índices de RC se asocian con una mayor atrofia cerebral y daño en la sustancia blanca, probablemente sugiriendo una mayor resistencia a la manifestación clínica en estos pacientes con un mayor grado de neuropatología. Funcionalmente, correlacionan positivamente con la intensidad de activaciones y negativamente con las desactivaciones del DMN durante el procesamiento cognitivo, sugiriendo una necesidad de sobreeforzar los recursos funcionales cerebrales para compensar un mayor daño estructural.

Altos índices de RC permite a los pacientes con DCL-a el uso de redes cerebrales alternativas, como mecanismo de compensación, para seguir rindiendo a un determinado nivel clínico y cognitivo a pesar de un proceso patológico subyacente.

En definitiva, el concepto de RC permite explicar la resistencia y compensación que muestran algunos cerebros a manifestar clínicamente un proceso patológico subyacente.

## 9.- ANEXO



# Cuestionario de variables relacionadas con la reserva cognitiva

*David Bartrés-Faz & Cristina Solé-Padullés*

Dept. Psiquiatria i Psicobiologia Clínica

Facultat de Medicina

Universitat de Barcelona

---

Nombre y apellidos:

Año de nacimiento:

Fecha de exploración:

---

## EDUCACIÓN / CULTURA

-Años totales de escolarización formal:

*0. no esc. / 1. primarios (hasta 8 años) / 2. secundarios (8-12) / 3. superior (>12)*

-¿Le han comentado alguna vez que le costó mucho o bien le costó muy poco aprender a leer o escribir?

*0. Le costó mucho / 1. normal / 2. Le costó poco*

-¿Actualmente está realizando algún curso en alguna escuela o universidad? Anotar el tipo de curso.

*0. no / 1. sí*

-¿Sus padres tienen estudios? ¿En casa de sus padres hubo un ambiente culto? (aficiones literarias, artísticas, musicales)?

*0. no / 1. Alguno de ellos con estudios secundarios / 2. Alguno de ellos con estudios superiores*

-¿Ha aprendido algún idioma a parte del catalán o español?

*0. ninguno / 1. algún conocimiento / 2. Buen conocimiento de otro idioma / 3. Buen conocimiento de 2 o más idiomas extranjeros.*

## ACTIVIDAD PROFESIONAL

- ¿Cuando estaba activo laboralmente, cuál fue su profesión o profesiones? Anotarlas.

*0. no cualificado manual / 1. Cualificado manual / 2. Cualificado no manual, secretariado o técnico (requiere formación específica no superior) / 3. Profesional (requiere estudios superiores) / 4. Directivo.*

## ACTIVIDAD INTELECTUAL DE OCIO

- ¿Durante su infancia leía habitualmente? Si responde que sí, intentar estimar el número de horas semanales.

*0. no habitualmente o esporádicamente / 1. habitualmente (> 3h/sem)*

- ¿Actualmente lee? Si responde que sí, intentar estimar el número de horas semanales:

*0. no habitualmente o esporádicamente / 1. habitualmente (> 3h/sem)*

- ¿Aprendió a tocar algún instrumento musical?

Si responde que sí preguntar:      ¿Cuál?

Estudió música en el conservatorio o academia o lo aprendió a tocar usted mismo o con amigos?

*0. No / 1. Aprendió a tocar un instrumento y actualmente todavía lo sabe tocar*

- ¿Desea destacar algún otro tipo de actividad que considere 'cognitiva' o intelectual que haya desarrollado a lo largo de la vida? (ej. escritura, pintura, etc..)

## ACTIVIDAD FÍSICA

- ¿Durante su infancia o juventud practicaba deporte? Si responde que sí, intentar cuantificar la media de horas semanales.

**1. Sí / 0. No**

- ¿Actualmente practica alguna actividad deportiva (incluye caminar habitualmente)? Si responde que sí, intentar cuantificar la media de horas semanales.

**1.** Sí / **0.** No

### **ACTIVIDADES SOCIALES**

- ¿Durante su vida, estima que ha tenido muchos amigos?

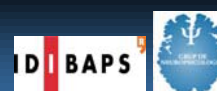
*0. pocos / 1. normal / 2. muchos*

- ¿Cómo definiría el grado de implicación en actividades sociales (incluye salir con amigos, participar en asociaciones, tareas de voluntariado, etc.) que ha realizado a lo largo de la vida?

*0. bajo / 1. normal / 2. alto*

- Actualmente, ¿cuál es su grado de implicación en actividades sociales?

*0. bajo / 1. normal / 2. alto*



## Structural and functional correlates of Cognitive Reserve in a visuoperceptive network among a-MCI.

Roser Sala-Llonch<sup>a,b</sup>, Beatriz Bosch<sup>a</sup>, Eider M. Arenaza-Urquijo<sup>b</sup>, Lorena Rami<sup>a</sup>, Carme Junqué<sup>b,c</sup>, Núria Bargalló<sup>c,d</sup>, José-Luis Molinuevo<sup>a,e</sup>, David Bartrés-Faz<sup>b,c\*</sup>

<sup>a</sup> Alzheimer's Disease and Other Cognitive Disorders Unit, Neurology Service, Hospital Clinic de Barcelona, Catalonia, Spain, <sup>b</sup> Department de Psiquiatria i Psicobiologia Clínica, Universitat de Barcelona, Catalonia, Spain, <sup>c</sup> Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Catalonia, Spain, <sup>d</sup> Radiology Service, Hospital Clinic de Barcelona, Catalonia, Spain.

rosal.sala@ub.edu

### Introduction

Mild Cognitive Impairment (MCI) defines a transitional state between normal ageing and dementia, thus, it may be considered as a prodromal stage of Alzheimer's disease, especially when presented in its amnesic form (a-MCI). Cognitive Reserve (CR) reflects the capacity of the brain to endure age-related changes and/or neuropathology to minimize clinical manifestations (Stern, 2009). In previous studies, CR has been shown to modulate brain function and structure among MCI during cognitive performance, albeit using separate analyses (Bosch et al., 2009; Solé-Padullés et al., 2009). In the present investigation we integrated both functional and structural MRI data to investigate the impact of CR in a defined visuoperceptive network in a group of a-MCI subjects. According to the predictions of the CR theory and our previous findings, we hypothesized that MCI patients with higher levels of CR would be able to exhibit functional compensations in the context of structural evidences reflecting a more advanced neurodegenerative process.

### Methods

Fifteen a-MCI patients participated in the study. Participants underwent an extensive clinical and psychological evaluation, reporting memory complaints and scoring below -1.5 SD on an episodic memory test, with no affection of other cognitive domains. Evaluation of CR included three proxies: the Vocabulary subtest of the WAIS-III, administered as a measure of premorbid IQ, an "education-occupation" variable, and lifetime occupations, physical and social life. Neuroimaging protocol included a T1-weighted structural MRI (MPRAGE), a Diffusion Weighted MRI, and a functional MRI (fMRI). During fMRI, subjects were asked to perform a block-designed visual task consisting on the identification of blurred images. Image analyses were performed using FSL tools.

First, Independent Component Analysis (ICA) of fMRI data allowed to obtain the main task related functional network of activations and deactivations during the performance of the task. Then, from the spatial map of the main component, several ROIs conforming both activation and deactivation networks were extracted.

Structural MP-RAGE images were processed for tissue-type segmentation using SIENAX. Thus, using the Gray Matter (GM) maps and the ROIs defined from functional network-related GM.

Diffusion MRI data was processed using a probabilistic tracking algorithm (PROBTRACKX), to estimate fiber directionality at each voxel. Furthermore, pairs of ROIs from fMRI data were used as seeds to obtain white-matter related connectivity maps.

Finally, Regression analyses were later performed between functional and structural network measures and with CR scores.

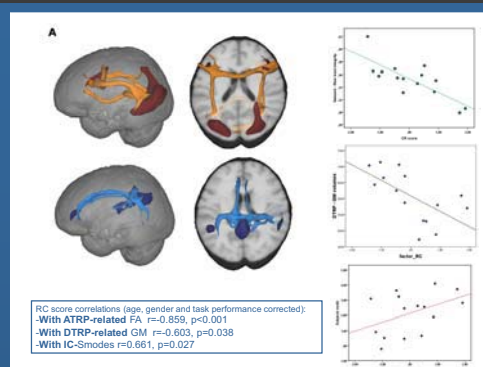


Figure 2: (A) Averaged spatial patterns for the ATRP (upper part) and for the DTRP (lower part) represented on a three-dimensional brain. Dark red and dark blue show network-implicated cortical regions, orange and light blue indicate fiber pathways. (B) Correlations between CR and fMRI, CR and WM integrity, and CR and GM volumes respectively. Values are corrected for age, gender and task performance.

### Results

All participants performed within normal range in the visuoperceptive task, indicating no clinical impairment. The identified task-related network from the ICA decomposition showed a highly strong concordance with the task time-series in the time domain. Its spatial map included both activated (Activation Task Related Pattern, ATRP) and deactivated brain regions (Deactivation Task Related Pattern, DTRP) during the task performance. The ATRP was conformed bilateral occipitotemporal areas and to a lesser extent, inferior and middle frontal and inferior parietal regions. The spatial extension of the DTRP (see figure 1A) had a high coincidence to the well-defined Default Mode Network (DMN) (Buckner, 2008). Regarding relationships between functional and structural measures, we found that fMRI activation strength (i.e. BOLD signal) of the cortical network was negatively correlated with gray matter volumes of regions related with the DTRP (but not those from ATRP). Finally and considering the impact of Cognitive Reserve, patients with higher scores showed increased fMRI activation strength and reduced tract integrity of the identified task-related pathways (Figure 2B).

### Conclusions

The present study integrating distinct MRI modalities (fMRI, volumetry and DTI) evidences that functional reorganizations among a-MCI exist, even when considering a clinically unaffected cognitive domain. Particularly, those patients with greater GM atrophy in areas of the DMN showed fMRI activation strength possibly reflecting compensatory functional mechanisms for a more affected structure. Part of these compensatory responses appeared to be modulated in fact by Cognitive Reserve, as patients with higher CR scores showed decreased WM integrity in the pathways of this network together with more robust fMRI responses. Present results, specifically isolating a cognitive network from a neuroimaging point of view among MCI, are in accordance with previous evidences indicating that in the preclinical stages of dementia, CR acts providing additional functional brain resources that are used to cope with more advanced degree of structural brain damage.

### References

- Bosch B, Bartrés-Faz D, Rami L, Arenaza-Urquijo EM, Fernández-Espejo D, Junqué C, Solé-Padullés C, Sánchez-Valle R, Bargalló N, Falcon C, Molinuevo JL (2009). Cognitive reserve modulates task-induced activations and deactivations in healthy elders, amnesic mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Cortex* 2009. May 20. [Epub ahead of print].
- Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL (2008). The brain's default network: Anatomy, function, and relevance to disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1124, pp. 1-38.
- Solé-Padullés C, Bartrés-Faz D, Junqué C, Vendrell P, Rami L, Clemente IC, Bosch B, Villar A, Bargalló N, Jurado MA, Barrios M, Molinuevo JL (2009). Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, vol. 30, num. 7, pp.1114-24.
- Stern Y (2009). Cognitive reserve. *Neuropsychologia*, vol. 47, no10, pp.2015-28.

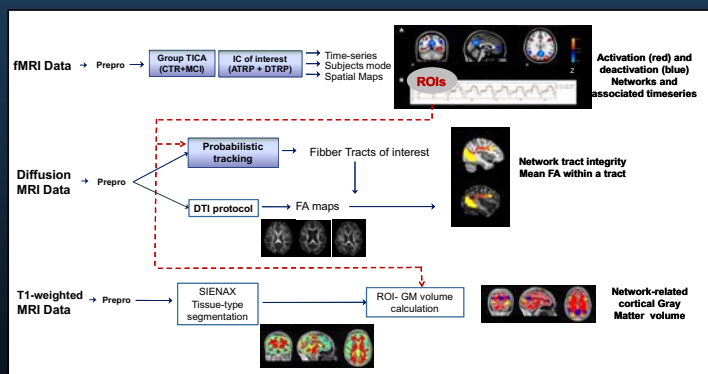


Figure 1: Schematic diagram of all the procedures carried out in the analysis of the three-modality MRI data and inferences between them.