

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE
Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular



Correlatos neuroanatómicos del déficit de memoria episódica en personas mayores con deterioro cognitivo leve

Tesis Doctoral
presentada por

Kelly Cristina Atalaia da Silva

Dirigida por

Dra. Mercedes Atienza Ruiz
Dr. José Luis Cantero Lorente

Sevilla, 2014



Dña. Mercedes Atienza Ruiz y D. José Luis Cantero Lorente, ambos Profesores Titulares del área de Fisiología, del Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular, perteneciente a la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo titulado "*Correlatos neuroanatómicos del déficit de memoria episódica en personas mayores con deterioro cognitivo leve*", ha sido realizado bajo su dirección y supervisión por Dña. Kelly Cristina Atalaia da Silva, Licenciada en Psicología por la Universidad Federal Juiz de Fora (Brasil), y reúne las condiciones académicas exigidas para optar al Grado de Doctor por la Universidad Pablo de Olavide, de Sevilla.

Para que así conste, firmamos el presente documento en Sevilla, a 25 de noviembre de 2013

Fdo.: Dra. Mercedes Atienza Ruiz

Fdo.: Dr. José Luis Cantero Lorente

A mi familia

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios por la oportunidad de la vida.

Agradezco inmensamente a los Doctores Mercedes Atienza Ruiz y José Luis Cantero Lorente el haberme permitido crecer como investigadora. Agradezco también la orientación y el apoyo constante que me han brindado en los momentos más difíciles de la realización de esta tesis doctoral. Muchas gracias por todo el cariño, paciencia y conocimiento científico.

A todos los profesores del programa de Doctorado, por el incentivo para seguir adelante en el fascinante mundo de las Neurociencias.

A mis compañeros de las clases de doctorado, por la paciencia con el idioma, por la amistad y el compañerismo.

A todos mis compañeros de laboratorio: Eva, Gabriel, Maité, María José, Silvia, Claudia, Rafael, Francisco, Esther, Diego, África, Michel, Jorge, Abel, Cristina, Mabel, Alejandro, Alba, María Carmen y Leonardo, por su ayuda y por el ánimo y amistad durante todo el período de ejecución de la tesis y por hacer más ameno el trabajo.

Agradezco a todos los participantes del estudio que de forma tan generosa han prestado su tiempo y su disposición de forma voluntaria al servicio de la ciencia.

A mis queridos amigos brasileños que siempre estuvieron a mi lado, a pesar de la distancia: Meimei, Flávio, Fernanda, Leonardo, Hélvia, Sabrina, Carla, Patrícia, Pricila y Aretha. Muchas gracias por todo el cariño y fuerza.

A mi hermana Lílian, por su amor, alegría, incentivo y entusiasmo.

A mis padres Mário y Maria Helena, por su renuncia, por su amor incondicional y por su dedicación constante. Toda mi gratitud y amor para ellos.

A mi novio José Geraldo, por estar siempre presente, por su incentivo en la realización de este trabajo y por todo su apoyo y amor.

A todos ellos, muchas gracias. Esta tesis doctoral es una victoria de todos nosotros. El camino no ha sido fácil, pero ha valido mucho la pena.

“Cada um de nós é quem é porque tem suas próprias memórias.”

Iván Izquierdo
(A arte de esquecer)

*“Then as it was, then again it will be
And though the course may change sometimes
Rivers always reach the sea”*

Led Zeppelin

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN:	Ácido Desoxirribonucleico
ANOVA:	Análisis de la Varianza
ANCOVA:	Análisis de la Covarianza
ApoE:	Gen de la apolipoproteína E
Aβ:	Beta-amiloide (siglas en inglés, <i>Amyloid-beta</i>)
CA (1,2,3):	Cornu Ammonis (capas 1, 2 y 3)
CDR:	Clasificación Clínica de Demencia (siglas en inglés, <i>Clinical Dementia Rating</i>)
DARTEL:	Siglas in inglés, <i>Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie Algebra</i>
DCL:	Deterioro Cognitivo Leve
DCLa:	Deterioro Cognitivo Leve de tipo Amnésico
DT:	Desviación Típica
DTI:	Imagen por Tensor de Difusión (siglas en inglés, <i>Diffusion Tensor Imaging</i>)
ϵ4-:	No portador del genotipo ApoE ϵ 4
ϵ4*:	Portador del genotipo ApoE ϵ 4
EA:	Enfermedad de Alzheimer
FDG:	2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa
FDR:	Tasa de Falsos Positivos (siglas en inglés, <i>False Discovery Rate</i>)
LCE:	Líquido cerebroespinal
LTM:	Lóbulo Temporal Medial
MMSE:	Examen del Estado Mental (siglas en inglés, <i>Mini-mental State Examination</i>)
MNI:	Instituto Neurológico de Montreal (siglas en inglés, <i>Montreal Neurologic Institute</i>)
ONF:	Ovillos Neurofibrilares
PCR:	Proteína C Reactiva (siglas en inglés, <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PET:	Tomografía por Emisión de Positrones (siglas en inglés, <i>Positron Emission Tomography</i>)
PIB:	componente B de Pittsburgh (siglas en inglés, <i>Pittsburgh B compound</i>)
RM:	Resonancia magnética
RMf:	Resonancia magnética funcional
SNP:	Siglas en inglés, <i>Single Nucleotid Polimorphism</i>
SPM:	Mapa Estadístico Paramétrico (siglas en inglés, <i>Statistical Parametric Mapping</i>)
TR:	Tiempos de Reacción

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE TABLAS	5
1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	13
2.1. La enfermedad de Alzheimer (EA)	14
2.1.1. Datos demográficos y epidemiológicos	14
2.1.2. Sintomatología clínica	15
2.1.3. Neuropatología y patofisiología	16
2.1.4. Principales factores de riesgo	20
2.2. Fase prodrómica de la EA: el deterioro cognitivo leve (DCL)	23
2.2.1. Definición de la categoría diagnóstica y datos epidemiológicos	24
2.2.2. Marcadores predictores de la conversión de DCL a EA	27
2.2.2.1. Marcadores neuropsicológicos	29
2.2.2.2. Marcadores genéticos	30
2.2.2.3. Marcadores neuroanatómicos <i>in vivo</i>	31
2.2.2.4. Marcadores neurofuncionales	35
2.2.2.5. Marcadores en líquido cefalorraquídeo (LCR)	37
2.2.2.6. Combinación de marcadores	39
3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS	43
4. MATERIALES Y MÉTODOS	51
4.1. Sujetos	51
4.2. Estímulos	53
4.3. Paradigma experimental	54
4.4. Análisis comportamental	58
4.5. Análisis estadístico de los índices de memoria	59
4.6. Determinación de los polimorfismos genéticos del gen ApoE	59
4.7. Adquisición de las imágenes de resonancia magnética cerebral (RM)	60
4.8. Procesamiento de las imágenes	60
4.9. Análisis estadísticos de la integridad anatómica y de su relación con la integridad cognitiva	64

5. RESULTADOS	69
5.1. Características demográficas de la muestra	69
5.2. Resultados conductuales	70
5.3. Resultados neuroanatómicos	73
5.3.1. Efecto del diagnóstico sobre la integridad anatómica	73
5.3.2. Relación entre la integridad anatómica y la memoria asociativa	75
5.3.3. Relación entre la integridad anatómica y el <i>priming</i> conceptual	78
6. DISCUSIÓN	83
6.1. La congruencia semántica facilita la formación de nuevas asociaciones en el envejecimiento normal	84
6.2. La codificación del contexto semántico no facilita la formación de nuevas asociaciones en las fases prodrómicas de la EA	87
6.3. El deterioro de la memoria asociativa en personas mayores con DCLa se relaciona con atrofas en la corteza entorrinal y en el hipocampo	93
6.3.1. Lateralización hemisférica de las atrofas asociadas al deterioro de la memoria asociativa	93
6.3.2. Relación entre la atrofia de la corteza entorrinal y el deterioro de la memoria asociativa	95
6.3.3. Relación entre la atrofia de CA y el deterioro de la memoria asociativa	99
6.4. La atrofia del hipocampo podría explicar el menor beneficio de la congruencia semántica en el grupo con DCLa	103
6.5. Influencia del componente genético	104
6.6. Limitaciones metodológicas	106
7. CONCLUSIONES	111
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
9. ANEXO I	151

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Fotomicrografía de un corte histológico de la corteza temporal de un paciente con EA a partir de la tinción modificada de Bielschowsky.	17
Figura 2.	Hipótesis sobre la cascada patogénica iniciada por la acumulación de A β cerebral que podría conducir a la EA.	19
Figura 3.	Diagrama de flujo para el diagnóstico de los diferentes subtipos de DCL.	26
Figura 4.	Progresión de la EA asociada a la taupatía.	29
Figura 5.	Representación esquemática de las tareas presentadas en la fase de estudio y en la fase de memoria.	56
Figura 6.	Mapa logarítmico de los determinantes jacobianos.	63
Figura 7.	Diagrama de flujo que ilustra la técnica de la morfometría basada en tensores y el registro de imágenes mediante DARTEL.	66
Figura 8.	Índice de precisión (d') en la tarea de memoria asociativa.	72
Figura 9.	Tiempos de reacción en la tarea de memoria asociativa.	73
Figura 10.	Mapas estadísticos paramétricos de las reducciones de volumen en sujetos con DCLa.	76
Figura 11.	Efecto del diagnóstico sobre las relaciones entre la memoria episódica y el volumen de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo.	78
Figura 12.	Resultados obtenidos tras comparar las pendientes de regresión entre grupos.	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Perfil demográfico y neuropsicológico de la muestra.	70
Tabla 2.	Volumen medio de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo (mm ³).	75
Tabla 3.	Diferencias entre grupos en el volumen de estructuras de la formación del hipocampo y de la corteza entorrinal, y en su relación con la memoria asociativa.	77
Tabla 4.	Relación entre el rendimiento en la tarea de priming conceptual y los cambios de volumen de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo.	80

1. RESUMEN

1. RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia y, en su forma esporádica, afecta sobre todo a personas mayores de 65 años. En España, un 8,2% de la población sufre esta enfermedad, cifra que podría triplicarse en el año 2050. Aunque la sintomatología se asocia con un metabolismo alterado de las proteínas beta-amiloide y tau, aún se desconocen cuáles son los factores que desencadenan tales alteraciones. Nos enfrentamos por tanto a una enfermedad sin tratamiento eficaz y de carácter terminal. Las evidencias sugieren que cuanto más temprana sea la intervención terapéutica más probabilidades habrá de ralentizar la progresión de la enfermedad, por lo que la búsqueda de biomarcadores tempranos se ha convertido en un reto para la neurociencia contemporánea.

Tanto los pacientes diagnosticados con EA como las personas mayores no dementes que presentan deterioro cognitivo leve (DCL) –estadio considerado como la fase prodrómica– muestran cambios anatómicos en diferentes regiones del lóbulo temporal medial (LTM), lo cual explicaría la pérdida gradual de la memoria episódica, muy especialmente de la memoria asociativa. Pero esta relación no siempre es evidente, como ocurre con las atrofiaciones localizadas en la corteza entorrinal y en la capa CA1 del hipocampo. Inspirados por estos resultados, el presente trabajo tiene un triple objetivo. En primer lugar, determinar en personas mayores con DCL de tipo amnésico (DCLa) la magnitud del deterioro de la memoria asociativa y el grado de reversibilidad cuando se introducen aspectos que facilitan la codificación y consolidación de nuevas asociaciones, como ocurre con la congruencia semántica del contexto en el que se codifican los eventos estimulares. En segundo lugar, determinar si las alteraciones de la memoria asociativa guardan relación con la integridad anatómica de diferentes estructuras del LTM como son la corteza entorrinal, subículum, Cornu Ammonis (CA) y giro dentado. Y por último, evaluar el impacto del genotipo ApoE4 sobre dicha relación, por ser este el principal factor de riesgo genético para desarrollar la EA.

Los resultados han puesto de manifiesto que las personas con DCLa, y muy especialmente las portadoras del genotipo ApoE4, muestran una menor capacidad para establecer y/o recuperar nuevas asociaciones así como para beneficiarse de la congruencia semántica durante la codificación. Este déficit en la memoria asociativa correlaciona con cambios de volumen que afectan fundamentalmente a la corteza entorrinal, a la región CA1 del hipocampo y a la transición CA1-CA2, mientras que la incapacidad para beneficiarse del contexto semántico

durante la codificación correlaciona con cambios de volumen en CA. Las diferencias de grupo en lo que a estas relaciones se refiere son independientes del genotipo ApoE.

Estos resultados son congruentes con la idea de que el fenotipo cognitivo de la EA guarda una estrecha relación con la distribución topográfica de las lesiones cerebrales que anteceden al diagnóstico de la enfermedad. Además, abren nuevas perspectivas para mejorar nuestro conocimiento sobre los daños cerebrales que caracterizan a las fases prodrómicas de la EA, aspecto que podría tener implicaciones prácticas para el diagnóstico temprano de esta patología neurodegenerativa.

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

Todo ser vivo, con el tiempo, se ve sometido a un conjunto de cambios progresivos que desembocan en el envejecimiento. Los procesos que subyacen al envejecimiento afectan a todos los sistemas del organismo, aunque no de forma homogénea ni simultánea. Ello impide que pueda establecerse una equiparación fiable entre la edad cronológica y el envejecimiento de un órgano o sistema en particular. Cuando hablamos de envejecimiento cerebral, más que referirnos a la integridad anatómica del sistema nervioso estamos haciendo alusión a las alteraciones funcionales. De hecho, el mero paso del tiempo va a suponer irremediamente cambios que afectan a todos los niveles de organización del sistema nervioso, sin que por ello se produzca un deterioro de la función cerebral. Este hecho se explica por la capacidad del sistema nervioso para adaptarse a los cambios que impone el paso del tiempo, un proceso que se conoce como plasticidad cerebral. Cuando las neuronas no son capaces de ofrecer una respuesta adaptativa al estrés oxidativo, metabólico e iónico que resulta del proceso de envejecer, comienza a alterarse el metabolismo de algunas proteínas, aumentando así la vulnerabilidad de algunas células al proceso degenerativo que caracteriza a las demencias (Mattson & Magnus, 2006).

El funcionamiento aberrante de tres proteínas, beta-amiloide ($A\beta$), alfa-sinucleína y tau explican el 70% de todas las demencias y el 90% de todas las enfermedades neurodegenerativas (Cummings, 2003). Una gran cantidad de estudios coinciden en que la EA resulta de la acumulación anormal de los subproductos que resultan del mal funcionamiento de la proteína $A\beta$ y de la proteína tau. Desde un punto de vista clínico, la sintomatología es totalmente silente en las primeras décadas de la enfermedad, pero un estudio reciente ha puesto de manifiesto que las lesiones cerebrales asociadas a la EA aparecen dos décadas antes del diagnóstico (Weiner, 2013). Las alteraciones leves de la memoria que caracterizan al DCL y que posteriormente progresarán hasta un estado de completa incapacidad y dependencia no aparecen hasta mucho después (McKhann *et al.*, 2011).

El desarrollo temprano de la patofisiología de la EA y la ausencia de tratamientos eficaces han reactivado la búsqueda de estrategias terapéuticas efectivas para la prevención. Si se lograra retrasar el desarrollo de la EA tan solo un año podría reducirse en más de 9 millones el número de pacientes en los siguientes 40 años (Brookmeyer *et al.*, 2007). Ello explica que un número creciente de grupos de investigación en todo el mundo hayan centrado sus esfuerzos en identificar marcadores cognitivos, genéticos y cerebrales (tanto estructurales como funcionales) que caractericen a las fases preclínicas de la EA. Los resultados del presente trabajo contribuyen a este propósito.

Antes de delimitar las hipótesis de trabajo, se realizará una breve descripción de la EA, haciendo especial hincapié en las características que definen sus fases prodrómicas, por ser precisamente estas las que preceden al diagnóstico clínico. A continuación, se expondrá cómo el estudio de diferentes biomarcadores puede mejorar el diagnóstico temprano de esta enfermedad neurodegenerativa. Aunque se revisarán diferentes biomarcadores, se pondrá mayor énfasis en los que constituyen el tema principal de este trabajo de Tesis Doctoral. Más concretamente, se prestará especial atención a los marcadores neuroanatómicos que junto con los cognitivos han arrojado resultados prometedores para el diagnóstico precoz de la EA, en parte gracias a su capacidad para predecir la progresión de la misma.

2.1. La enfermedad de Alzheimer (EA)

2.1.1. Datos demográficos y epidemiológicos

Actualmente nos encontramos en un proceso de transición demográfica que está siendo especialmente acusado en España. El Gabinete de Estadística de la Unión Europea (Eurostat) pronostica que la población española será de 42,8 millones en 2050, por lo que la proporción de ancianos pasará de un 16,4% a un 29,9%. España es, por tanto, uno de los países que está envejeciendo de forma más acelerada en todo el mundo. En el año 2050, España será el país

europeo con mayor proporción de jubilados (35,6%) y menor número de personas en edad de trabajar (52,9%) sobre el total de la población. Eurostat también prevé un incremento considerable de los mayores de 80 años, llegando a suponer un 12,8% de la población total española. Todos estos datos apuntan a que la tasa total de dependencia se situará en el 89,2%, lo que supone un grave problema para las políticas de salud y de pensiones (<http://epp.eurostat.ec.europa.eu>).

En paralelo con esta transición demográfica se está produciendo un incremento de las enfermedades neurodegenerativas. Las demencias están entre los principales problemas de salud que ocasionan incapacidad y dependencia entre las personas mayores. Su prevalencia en mayores de 65 años se encuentra alrededor del 7% (<http://epp.eurostat.ec.europa.eu>). Entre un 60 y un 80% de este grupo padece la EA. Ello significa que aproximadamente 34 millones de individuos sufren esta enfermedad en el mundo, pero lo más preocupante es que esta cifra puede triplicarse en los siguientes 40 años (Brookmeyer *et al.*, 2007).

La prevalencia de demencias en España está en torno al 6%, siendo mayor entre las mujeres (de Pedro-Cuesta *et al.*, 2009). Con la edad también aumenta el número de afectados por las demencias. En mayores de 85 años, las cifras se sitúan entre los 20 y los 27 afectados por cada 100.000 habitantes. Alrededor de 380.000 personas son diagnosticados con EA en España (8,2% de la población total computada en octubre de 2012). El Instituto Nacional de Estadística estima que esta cantidad también podría triplicarse en 2050, de tal manera que nuestro país podría llegar a tener casi un millón de personas diagnosticadas con EA en poco más de tres décadas (<http://www.ine.es>).

2.1.2. Sintomatología clínica

La EA es una patología muy heterogénea en relación con la aparición de los primeros síntomas. Pueden observarse cambios en múltiples dominios cognitivos que no solo afectan a la memoria sino también a la atención y a la fluidez verbal, y a otras funciones como las habilidades visoconstructivas y la capacidad para hacer cálculos o utilizar objetos (Lindeboom

& Weistein, 2004). Estas alteraciones cognitivas se acompañan además de alteraciones comportamentales tales como agitación motora y conductas agresivas (Cummings *et al.*, 2008) así como de trastornos del sueño (Prinz *et al.*, 1982), los cuales comienzan a ser evidentes en las fases prodrómicas (Hita-Yáñez *et al.*, 2012; 2013). Es precisamente esta sintomatología no cognitiva la que resulta más difícil de afrontar por parte de los cuidadores y la principal razón por la que finalmente estos pacientes terminan siendo institucionalizados (Georges *et al.*, 2008, O'Donnell *et al.*, 1992; Steele *et al.*, 1990). Estas alteraciones (cognitivas y comportamentales) impiden que los pacientes puedan desarrollar normalmente sus actividades de la vida diaria. El desenlace de la enfermedad suele ocurrir tras un período de 5-10 años.

2.1.3. Neuropatología y patofisiología

Más de 100 años después de la primera descripción patológica de la EA (Alzheimer, 1907; ver versión en inglés de Steltzman *et al.*, 1995), las hipótesis explicativas relacionadas con su patogénesis continúan centrándose en los agregados de A β (placas seniles) distribuidos por el espacio extracelular y en los ovillos neurofibrilares (ONF) localizados en el soma neuronal y en las dendritas apicales. A día de hoy, el diagnóstico definitivo de la EA se realiza a partir del estudio histopatológico derivado de la autopsia cerebral del paciente. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de los subproductos de la malformación de estas dos proteínas.

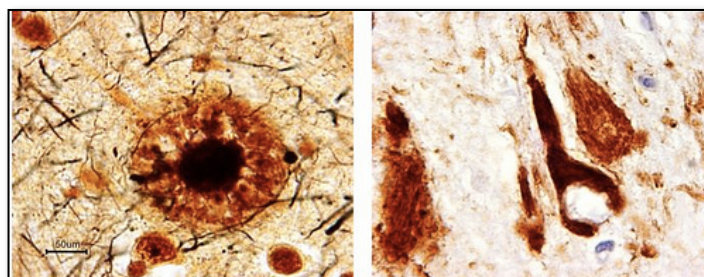


Figura 1. Fotomicrografía de un corte histológico de la corteza temporal de un paciente con EA a partir de la tinción modificada de Bielschowsky. Pueden observarse las placas seniles (izquierda) y los ovillos neurofibrilares (derecha).

Las placas seniles son agregados del polipéptido A β rodeados de prolongaciones neuronales degeneradas. Estos agregados proceden de la ruptura enzimática de una proteína de mayor tamaño denominada Proteína Precursora de Amiloide (APP), necesaria para el crecimiento y supervivencia de la neurona. La acción de diferentes proteasas dan lugar a diferentes formas de A β , siendo la forma A β ₁₋₄₀ (40 aminoácidos) la predominante y menos tóxica en comparación con las formas A β ₁₋₄₂ o A β ₁₋₄₃ que son menos solubles y más neurotóxicas.

Los ONF son un conglomerado anormal de proteína tau compuesto por pequeñas fibrillas entrelazadas dentro de las neuronas. El gen humano de esta proteína se localiza en el cromosoma 17. En condiciones normales, su correcta fosforilación regula el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos que conforman el citoesqueleto de las neuronas, promueve el crecimiento neuronal, y facilita el soporte enzimático y el transporte axonal de las organelas hasta las terminaciones nerviosas (Wang & Liw, 2008). Sin embargo, en la EA, la proteína tau está hiperfosforilada, formando largas placas que llegan a adquirir un aspecto helicoidal como el que se muestra en la Figura 1. En estas condiciones, la proteína tau pierde su capacidad para ensamblar microtúbulos, y se agrega en el interior de la célula (Iqbal *et al.*, 2009). De esta forma, las neuronas afectadas pierden su capacidad funcional y mueren en último extremo.

No está claro cómo los agregados de A β y/o la formación de ONF pueden conducir a la EA. La hipótesis amiloide, ilustrada en la Figura 2 (Hardy & Allsop, 1991; Selkoe, 2001), sugiere que la acumulación de A β iniciaría la cascada patogénica que conduciría a la neurotoxicidad, y en último extremo al síndrome clínico de la EA. Contrariamente a lo que cabría esperar, los agregados de A β no correlacionan ni con el deterioro cognitivo (Arriagada *et al.*, 1992; ver también Mufson *et al.*, 1999) ni con la muerte neuronal (Schmitz *et al.*, 2004) que caracterizan a la EA y a sus fases prodrómicas, aún cuando hay evidencias de que la acumulación de A β a lo largo de la vida está ligada al deterioro cognitivo y al hipometabolismo de regiones corticales cruciales para la memoria (Kennedy *et al.*, 2012).

Ha sido precisamente esta controversia la que ha conducido a otros investigadores a defender que la hiperfosforilación de la proteína tau podría ser el detonante de la cascada patogénica (Hardy & Selkoe, 2002; Mudher & Lovestone, 2002). De acuerdo con esta hipótesis, la deposición de A β alcanza su máximo nivel en las fases prodrómicas de la enfermedad, mientras que son los ONF los que continúan desarrollándose en paralelo con la atrofia cerebral y con la severidad de la EA (Bouras *et al.*, 1994; Braak & Braak, 1997). El principal problema es que tanto los agregados de A β (Coria *et al.*, 1987; Serrano-Pozo *et al.*, 2011) como los ONF (Arriagada *et al.*, 1992) muestran una distribución muy similar en personas mayores no dementes y en personas con EA, por lo que los procesos patológicos que favorecen su desarrollo podrían ser similares en ambos grupos.

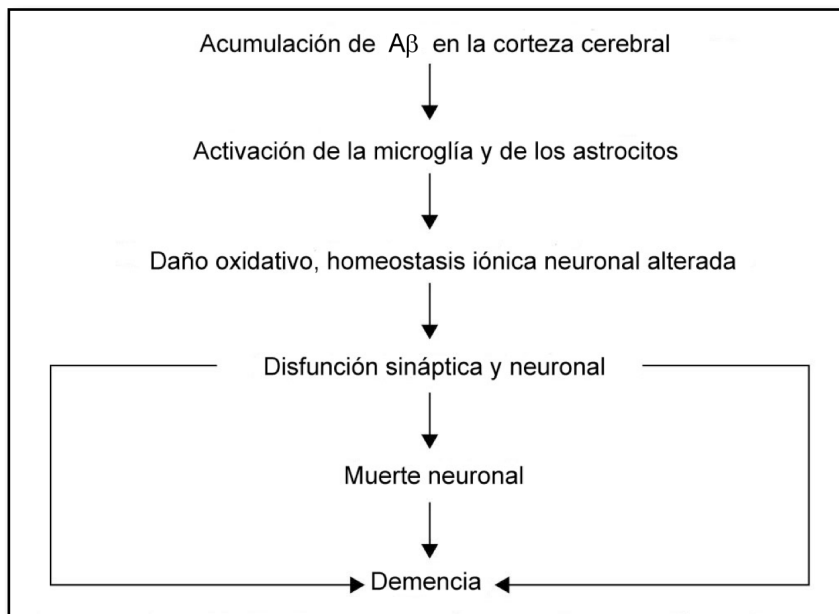


Figura 2. Hipótesis sobre la cascada patogénica iniciada por la acumulación de A β cerebral que podría conducir a la EA. Adaptada de Casserly & Topol (2004).

La formación de los ONF comienza en la corteza entorrinal alrededor de los 65 años, incluso durante el envejecimiento normal. Sin embargo, en la EA los ONF se extienden a otras regiones cerebrales (Bouras *et al.*, 1994; Braak & Braak, 1991, 1995). Por el contrario, la acumulación de agregados de A β comienza en la neocorteza, y los estudios *post mortem* han mostrado que están presentes en el 40% de las personas mayores de 65 años que fallecen sin haber sido diagnosticados con ningún tipo de demencia (Bouras *et al.*, 1994; Braak & Braak, 1997; Price & Morris, 1999).

Aunque los estudios científicos sobre la forma familiar de la EA han sido los que más han contribuido a nuestro conocimiento sobre la patogénesis de la enfermedad, su incidencia es muy baja, explicando menos del 5% de los casos con EA (Bekris *et al.*, 2010). El 95% de los casos restantes corresponde a la forma esporádica que resulta de la interacción entre múltiples factores genéticos y ambientales. Si bien las características neuropatológicas son muy similares en ambas variantes de la enfermedad, la etiología es claramente distinta. Ello explica la imposibilidad de plantear una hipótesis unificadora que pueda integrar a todas las variantes de EA. No es de extrañar, por tanto, que diferentes mecanismos patogénicos puedan operar en diferentes pacientes, en función de la etiología subyacente. La acumulación del péptido A β podría no ser más que el final común de la acción de estos diferentes procesos.

La EA se asocia también con una deficiencia de acetilcolina a nivel cerebral, como resultado de la muerte de neuronas colinérgicas en el núcleo basal de Meynert. Este núcleo contiene el 80% de las neuronas colinérgicas en el cerebro humano y constituye la principal fuente productora de la enzima acetiltransferasa. La acetilcolina es liberada en estructuras como el hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral, donde se acopla a receptores muscarínicos y nicotínicos, y la sobrante es degradada por la enzima acetilcolinesterasa. El bloqueo de los receptores de la acetilcolina produce cambios en el aprendizaje y la memoria. De hecho, la gravedad de la sintomatología en la EA correlaciona con el nivel de disfunción colinérgica (DeKosky *et al.*, 1992; Perry *et al.*, 1978) y el deterioro cognitivo que caracteriza a las fases prodrómicas de la EA correlaciona con la atrofia del núcleo basal de Meynert (Grothe *et al.*, 2010).

Los déficits colinérgicos de la EA están en la base del desarrollo de fármacos pro-colinérgicos. Los anticolinesterásicos constituyen los medicamentos más utilizados para frenar el deterioro cognitivo asociado a la EA, y es por ello que en ocasiones se prescriben a personas mayores que se encuentran en alto riesgo de desarrollar la EA (Alexopoulos *et al.*, 2005). Entre estos fármacos se encuentran la fisostigmina, galantamina, tacrina, donepezilo y rivastigmina. Otro fármaco frecuentemente utilizado es la memantina, que facilita la transmisión glutamatérgica. El glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso, y actúa directamente sobre el hipocampo y diferentes regiones de la corteza temporal facilitando procesos como el aprendizaje y la memoria (Rogawski & Wenk, 2003). Sin embargo, la prescripción médica de fármacos moduladores de la acción glutamatérgica en pacientes con EA leve continúa siendo controvertida, dado el efecto tóxico que produce el exceso de glutamato a nivel celular y las implicaciones cognitivas negativas (Schwarz *et al.*, 2012).

También se ha contemplado la posibilidad de que la EA sea un subproducto de la arteriosclerosis vascular (de la Torre, 2002). Aunque se han propuesto varias vías a través de las cuales la acumulación de placas arterioscleróticas podrían conducir a la patofisiología de la EA, no está del todo claro que ambos procesos constituyan diferentes fases de una misma patología (Casserly & Topol, 2004).

2.1.4. Principales factores de riesgo

Entre los principales factores de riesgo de la EA, la edad destaca por encima de todos. A partir de los 65 años la incidencia de la EA aumenta exponencialmente, duplicándose cada cinco años (Lindsay *et al.*, 2002). De hecho, la Asociación para el Alzheimer en Estados Unidos estima que casi la mitad de los ancianos con más de 85 años sufren esta enfermedad.

Durante el proceso de envejecimiento normal, el cerebro sufre cambios que resultan en un deterioro cognitivo gradual, asociado a una disminución de la densidad de las espinas dendríticas y a una muerte neuronal. Los mecanismos moleculares que conducen al

envejecimiento cerebral no se conocen completamente, pero se sabe que incluyen procesos de daño mitocondrial y estrés oxidativo crónico. No obstante, este deterioro progresivo no interfiere en el funcionamiento de las actividades cotidianas hasta alcanzar edades muy avanzadas (Podtelezchnikov *et al.*, 2011). En el caso de la EA, el deterioro cognitivo progresa con rapidez y se acompaña de daños en circuitos cerebrales concretos causados por la patofisiología propia de esta enfermedad. Evidencias recientes derivadas de estudios *post mortem* han revelado que las lesiones que caracterizan a la EA son evidentes en la década de los 40-50 en personas sanas de ambos sexos, aún en ausencia de los procesos celulares que normalmente se asocian al envejecimiento (Braak *et al.*, 2011). En particular, este estudio demuestra que la edad no es una condición necesaria para que se desarrolle la taupatía que acompaña a la EA, aunque esta se desarrolla tan lentamente que la sintomatología asociada no aparece hasta edades avanzadas.

Otro factor de riesgo igualmente importante es la presencia del alelo $\epsilon 4$ del gen de la apolipoproteína E (ApoE). Investigaciones realizadas con gemelos han encontrado que este genotipo representa un 60% de la susceptibilidad genética para la EA (Kim *et al.*, 2009). Entre los pacientes que desarrollan la forma precoz de la EA, el 80% presenta el alelo $\epsilon 4$ (Gatz *et al.*, 2006), el cual, al contrario que el alelo $\epsilon 2$ que actúa como factor de protección, aumenta el riesgo de desarrollar la EA (Corder *et al.*, 1993).

Existen varios mecanismos mediante los cuales el genotipo ApoE4 podría incrementar el riesgo de desarrollar la EA. Así, se ha demostrado que este gen interacciona con las vías de expresión de los agregados de $A\beta$, facilitando su aparición en el espacio extracelular cerebral (Kim *et al.*, 2009). Además, afecta de forma negativa a la plasticidad sináptica, señalización celular, procesos neuroinflamatorios, transporte axonal y metabolismo de lípidos (Holtzman *et al.*, 2012; Podtelezchnikov *et al.*, 2011). En un estudio realizado con tomografía por emisión de positrones (PET) a partir del radioligando PIB (componente B de Pittsburgh) se constató que la presencia del alelo $\epsilon 4$ en adultos jóvenes cognitivamente sanos, al contrario que la presencia del alelo $\epsilon 2$, estaba asociada a una cantidad significativamente mayor de $A\beta$ en el cerebro

(Reiman *et al.*, 2009). La presencia del alelo $\epsilon 4$ también se ha asociado con una mayor probabilidad de desarrollar la EA durante las fases presintomáticas (Smith *et al.*, 1998), y con una mayor capacidad para predecir el nivel de deterioro cognitivo en personas mayores sanas (Nilsson *et al.*, 2006). De hecho, estudios longitudinales han mostrado que la presencia del alelo $\epsilon 4$ aumenta la tasa anual de atrofia del hipocampo en mayores sanos y muy particularmente en personas mayores que se encuentran en las fases presintomáticas y que finalmente terminan desarrollando la EA (Cosentino *et al.*, 2008; Hua *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2005).

El ApoE es una proteína que participa en el transporte del colesterol que se encuentra en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo. Ello explica que las personas portadoras del alelo $\epsilon 4$ presenten elevadas tasas de lipoproteínas de baja densidad o colesterol LDL (del inglés, *low density level*; Sing & Davignon, 1985), y que los altos niveles de colesterol se consideren un factor de riesgo para la demencia (Blom *et al.*, 2013). De hecho, la administración de fármacos dirigidos a reducir los niveles de colesterol, como las estatinas, disminuyen también el riesgo de desarrollar la EA en personas mayores de 50 años (Jick *et al.*, 2000; Wolozin *et al.*, 2007).

Otras patologías como la diabetes, hipertensión, arteriosclerosis, y síndrome metabólico también aumentan el riesgo de padecer la EA. En este sentido cobra especial importancia la dieta. Así, las dietas hipercalóricas y ricas en ácidos grasos saturados, al igual que la obesidad y la ingesta excesiva de alcohol se consideran factores de riesgo de la EA. Seneff *et al.* (2011) han mostrado que una dieta con exceso de carbohidratos, principalmente fructosa, aumenta el colesterol y favorece el desarrollo de la EA, mientras que la ingesta de nutrientes antioxidantes y de pescados representa un factor neuroprotector ante la EA (Morris, 2009). Estos factores de riesgo son de especial interés porque además de entrar en la categoría de modificables, están detrás de la mitad de los casos de EA (Barnes & Yaffe, 2012). De hecho, reducir entre un 10% y un 25% factores como el bajo nivel educativo, tabaquismo, vida sedentaria, depresión, obesidad, hipertensión y diabetes podría reducir la prevalencia mundial de la EA entre 1,1 y 3 millones de afectados.

Dado que aún no se dispone de un tratamiento eficaz para la EA (O'Brien *et al.*, 2011), son muchos los esfuerzos dirigidos a identificar factores que podrían ser la causa o, en su defecto, marcadores cognitivos, genéticos y biológicos que faciliten el diagnóstico temprano de esta patología neurodegenerativa. El diagnóstico precoz puede aumentar la expectativa y calidad de vida de los pacientes mediante la implementación de terapias farmacológicas y de estimulación cognitiva. Es por ello que se recomienda que este tipo de actuaciones se implementen en la fase prodrómica de la EA conocida como Deterioro Cognitivo Leve (DCL).

2.2. Fase prodrómica de la EA: el deterioro cognitivo leve (DCL)

Una de las quejas más frecuentes entre las personas mayores es la pérdida de memoria (Cutler & Grams, 1988), aunque a menudo también presentan un peor rendimiento que los jóvenes en tareas que implican otros dominios cognitivos (La Rue, 1992). Si bien el envejecimiento suele cursar con deterioro cognitivo, no es menos cierto que las diferencias entre individuos son muy acentuadas, llegando algunos de ellos a presentar síntomas de demencia incipiente (Wilson *et al.*, 1999). De hecho, las lesiones de la EA son frecuentes en personas no dementes con deterioro de la memoria (Morris *et al.*, 2001). Estos hallazgos, entre otros, han conducido a la idea de que el DCL puede constituir un estadio intermedio entre el envejecimiento normal y la EA.

En el apartado anterior hemos revisado los principales factores de riesgo de la EA. Sin embargo, no hemos mencionado que el DCL, en especial el de tipo amnésico, además de ser una entidad diagnóstica que antecede a la EA, puede considerarse uno de los factores de riesgo más importantes. Según un estudio reciente realizado en población española, estos individuos presentan 8,5 veces más riesgo de desarrollar EA que las personas con DCL de tipo no amnésico (Espinosa *et al.*, 2013). Por lo tanto, y aún cuando no todos los individuos con DCL desarrollarán la EA (Ganguli, 2006; Gauthier *et al.*, 2006; Maioli *et al.*, 2007; Petersen *et al.*, 1999), parece importante considerar esta ventana temporal previa al diagnóstico clínico

como una oportunidad para mejorar la detección temprana y adelantar un tratamiento que permita ralentizar lo más posible los efectos de la neurodegeneración (Petersen, 2009).

2.2.1. Definición de DCL y datos epidemiológicos

El término DCL fue inicialmente esbozado por Reisberg *et al.* (1988), pero fueron Petersen *et al.* (1999) los que le asignaron criterios clínicos y lo situaron en los años previos al diagnóstico de la EA. Un grupo de investigadores reunidos en Chicago en 1999, y otro grupo reunido en Estocolmo en 2003, revisaron el estado actual del concepto de DCL. Los principales criterios diagnósticos que surgieron de estas dos reuniones fueron los siguientes: (i) el paciente no puede catalogarse como normal pero tampoco reúne los criterios de demencia; (ii) aparte de las quejas subjetivas de memoria corroboradas por un informador, debe existir la evidencia de un deterioro cognitivo objetivable mediante pruebas neuropsicológicas. En particular, se espera que estas personas no presenten alteraciones significativas de la función cognitiva global en pruebas como la escala de inteligencia de Wechsler o el examen del "minimal" (MMSE); y que por el contrario, los resultados en pruebas de memoria que incluyen aprendizaje de listas de palabras, párrafos, materiales no verbales y memoria semántica, estén por debajo de 1,5 desviaciones estándar a lo esperado para su edad. Por último, (iii) las actividades de la vida diaria deben estar conservadas o mínimamente afectadas.

A pesar del grado de consenso alcanzado para establecer estos criterios, diferentes estudios pronto pusieron de manifiesto la enorme heterogeneidad que caracterizaba a esta categoría diagnóstica (DeCarli, 2003). Es por ello que en 2004 se decidió ampliar estos criterios con el fin de incluir otras formas de deterioro cognitivo (Winblad *et al.*, 2004): (i) DCL de tipo amnésico (DCLa) si las personas muestran una afectación selectiva de la memoria; (ii) DCLa multidominio si las personas presentan alteraciones de varias funciones cognitivas incluida la memoria; (iii) DCL no amnésico de único dominio si las personas muestran alteraciones de una habilidad cognitiva diferente de la memoria; y (iv) DCL multidominio no amnésico si las personas presentan alteraciones de varias funciones cognitivas que no incluyen a la memoria.

La Figura 3 muestra un diagrama de flujo para el diagnóstico de las diferentes categorías de DCL.

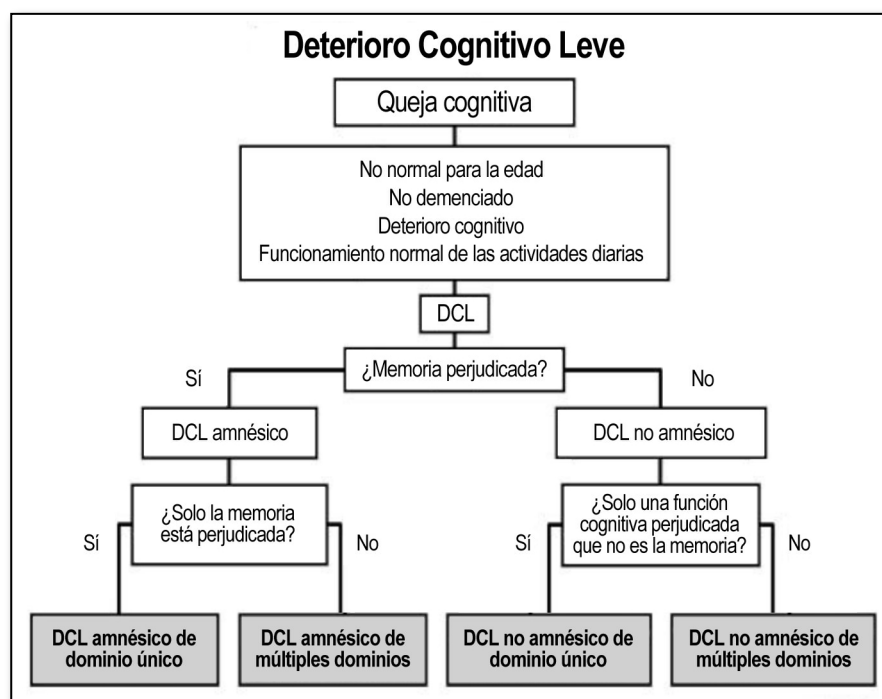


Figura 3. Diagrama de flujo para el diagnóstico de los diferentes subtipos de DCL. Adaptado de Petersen *et al.* (2009).

En líneas generales, la tasa de incidencia de DCL es muy variable entre estudios, moviéndose en una horquilla que varía entre 14% y 18% para personas mayores de 70 años (Petersen *et al.*, 2009). No obstante, cada categoría de DCL presenta diferente prevalencia y pronóstico. Por ejemplo, en un estudio realizado en Japón se encontró que la incidencia del DCL variaba entre un 1,7% y un 16,6% dependiendo del criterio aplicado (Sasaki *et al.*, 2009). Curiosamente, el DCLa de múltiples dominios con un corte de 1 desviación estándar fue el que mostró mayor prevalencia (11%) y peor pronóstico (39,5% de incidencia de ApoE4) (ver también Han *et al.*, 2012). Por el contrario, la categoría clásica de DCLa mostró la incidencia más baja, aunque su pronóstico continuó siendo malo (25% de incidencia de ApoE4). La baja incidencia del DCLa, confirmada por estudios realizados en población europea (Busse *et al.*, 2006; Jungwirth *et al.*, 2005), no se corresponde con la incidencia de la EA. Este hecho refuerza la hipótesis de que

los criterios originalmente establecidos por Petersen *et al.* (1999) excluyen a un número importante de personas que podrían estar en alto riesgo de desarrollar la EA.

La tasa de conversión anual de DCL a EA fluctúa entre el 10-15% (Burns & Zaudig, 2002; Ritchie *et al.*, 2001), siendo los sujetos con DCLa los que presentan una tasa de conversión mayor para la EA, mientras que el resto de las categorías presentan una mayor tasa de conversión para las demencias vasculares y frontales, cuando no permanecen estables (Busse *et al.*, 2006; Ravaglia *et al.*, 2006; Fischer *et al.*, 2007). No obstante, en un estudio reciente se ha observado que el DCLa de múltiples dominios es el que muestra una tasa de conversión más alta mientras que el DCLa es la categoría diagnóstica más inestable (Brodaty *et al.*, 2013; ver también Tabert *et al.*, 2006).

Esta amalgama de resultados, a veces contradictorios, ha favorecido la aparición de nuevos criterios diagnósticos para las fase prodrómicas de la EA (Dubois *et al.*, 2007). El principal cambio respecto a los criterios utilizados en la práctica clínica es la presencia de alteraciones significativas de la memoria episódica junto con resultados anormales en al menos un biomarcador de la EA (DSM-IV, CIE-10 y NINCDS-ADRDA¹). Los principales biomarcadores incluyen la presencia de atrofia del LTM evaluada mediante resonancia magnética (RM), concentraciones anormales de proteína tau o A β en líquido cefalorraquídeo (LCR), e hipometabolismo en regiones temporo-parietales evaluado mediante PET. De hecho, recientemente se ha demostrado que la conversión de DCL a EA aumenta cuanto más se asemeja el patrón arrojado por estos biomarcadores al modelo patofisiológico que predice la EA, pudiendo alcanzar el 100% cuando se identifican anomalías en los tres biomarcadores (Prestia *et al.*, 2013). Pero la capacidad predictiva de los mismos sigue siendo mayor en pacientes con DCLa (Vos *et al.*, 2013; Wolk *et al.*, 2009).

¹ Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales-IV (DSM-IV); Clasificación Internacional de Enfermedades-10ª edición (CIE-10); y National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA).

2.2.2. Marcadores predictores de la conversión de DCL a EA

Aunque las lesiones cerebrales que caracterizan a la EA siguen un patrón espacio-temporal específico, no está del todo claro cuál de los dos eventos neuropatológicos ocurre en primer lugar. Como se anticipó anteriormente, hay trabajos que apoyan la hipótesis de que los ONF aparecen después de que se hayan desarrollado los agregados de A β (revisado en Hardy & Selkow, 2002; Weiner, 2013), mientras que otras evidencias apuntan en la dirección opuesta (Braak & Tredici, 2011; Braak *et al.*, 2011). Basándose en una larga serie de autopsias cerebrales, Braak y Braak (1991) propusieron un modelo de progresión de la EA compuesto por seis niveles. De acuerdo con este modelo, los ONF aparecerían primero en la corteza transentorrinal y entorrinal y, ocasionalmente, en el hipocampo, seguido por una acumulación más severa en la corteza transentorrinal, en el hipocampo y, ocasionalmente, en la neocorteza en los niveles 3 y 4 (niveles límbicos). En los niveles 5 y 6, una gran cantidad de ONF aparecerían en las cortezas de asociación y también en áreas sensoriales primarias (niveles isocorticales). La demencia se confirmaría con alto grado de certeza cuando los ONF aparecieran en las cortezas asociativas. Estudios más recientes sugieren que este patrón espacio-temporal se remonta años atrás a estructuras subcorticales como el locus ceruleus, en ausencia de agregados de A β (Braak *et al.*, 2011). La Figura 4 ilustra la cascada de eventos que comenzarían en diferentes regiones subcorticales pertenecientes a núcleos no talámicos hasta alcanzar las áreas corticales sensoriales en las últimas fases de la EA. No obstante, hay evidencias de que la disminución de la densidad sináptica podría ser un indicador más directo del deterioro cognitivo que la acumulación de ONF (Terry *et al.*, 1991). De hecho, la atrofia del tejido cerebral podría venir motivada por muerte neuronal, disminución de axones y dendritas o acortamiento de tractos de fibras nerviosas.

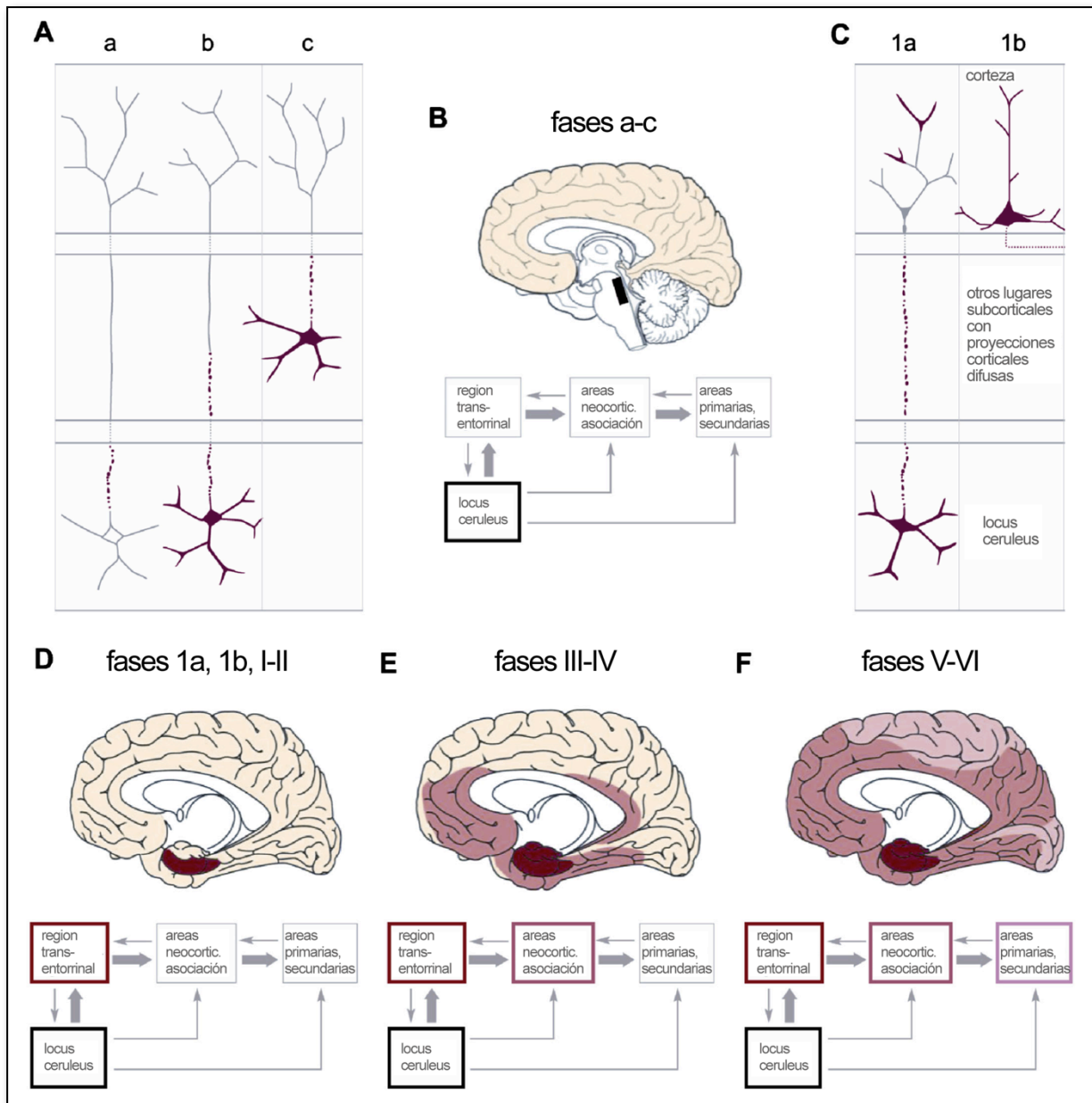


Figura 4. Progresión de la EA asociada a la taupatía. **(A)** Las neuronas del locus ceruleus son las primeras en mostrar protofibrillas (fase a). A continuación, este material invade el soma y las dendritas de neuronas que contienen neuromelanina (fase b). Y luego afecta a otras neuronas de núcleos troncoencefálicos no talámicos como los núcleos del rafe, núcleos magnocelulares del prosencéfalo basal, y núcleos tuberomamilares del hipotálamo, los cuales envían proyecciones corticales difusas (fase c). **(B)** Esquema de las regiones involucradas en las fase a-c y diagrama que ilustra las conexiones entre dichas regiones. **(C)** En la fase 1a, parte de los procesos neuronales que contienen protofibrillas se localizan en la región transentorrinal. Estos procesos son probablemente terminales axónicos alterados por la patología. En la fase 1b, las protofibrillas se extienden a un número cada vez mayor de somas de neuronas piramidales de la región transentorrinal. **(D-F)** Mismo esquema que B, pero ahora centrado en el lóbulo temporal medial. En negro se muestran las áreas subcorticales que contienen protofibrillas de las fases a-c; en rojo oscuro las áreas corticales que contienen protofibrillas de las fases 1a y 1b y ONF de las fases I y II, y en un rojo claro las de las fases III y IV y las de las fases V y VI. Las conexiones entre el locus ceruleus y la región transentorrinal han conducido a la hipótesis de que la progresión de la taupatía ocurre de forma anterógrada. Adaptado de Braak *et al.* (2011).

La motivación del diagnóstico precoz cuando la sintomatología es todavía incipiente ha impulsado la realización de numerosos estudios con la finalidad de caracterizar un grupo más homogéneo dentro del grupo con DCL, con tasas de conversión más elevadas, que finalmente pueda considerarse como la verdadera fase prodrómica de la EA. Si bien al comienzo estos estudios evaluaban el efecto predictor de cada biomarcador por separado, en la actualidad han proliferado los estudios que contemplan el efecto predictor de la combinación de diferentes biomarcadores.

2.2.2.1. Marcadores neuropsicológicos

Las pruebas neuropsicológicas utilizadas más frecuentemente en la práctica clínica para evaluar las alteraciones de la memoria episódica en las fases prodrómicas y clínicas de la EA se han basado en el recuerdo libre de la información verbal. Aunque estas pruebas son útiles para predecir la conversión de DCL a EA (Albert *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2001; Grober *et al.*, 2000), la capacidad predictiva de los marcadores neuropsicológicos podría mejorar sensiblemente si se introdujeran pruebas en las que se facilitara el procesamiento semántico durante la codificación y en las que se proporcionaran claves contextuales durante la recuperación (Dubois *et al.*, 2007; para una revisión ver Carlesimo *et al.*, 2011).

El deterioro de la función ejecutiva es también habitual en personas mayores con DCL (Albert *et al.*, 2007; Huntley & Howard, 2010; Rapp & Reischies, 2005; Tabert *et al.*, 2006) y suele aparecer en tareas que requieren flexibilidad cognitiva, inhibición y auto-monitorización (Traykov *et al.*, 2007). Algunos estudios sugieren que la incapacidad para realizar dos tareas al mismo tiempo refleja un déficit específico para dividir la atención más que una reducción en la velocidad de procesamiento (Baddeley *et al.*, 2001). Al parecer, estos problemas son posteriores a la aparición de los déficits de memoria, pero anteceden a la afasia y déficit visuoespacial, síntomas típicos del lóbulo parietal (Perry *et al.*, 2000). No es de extrañar, por tanto, que la presencia del déficit ejecutivo también incremente el riesgo de desarrollar la EA (Gomar *et al.*, 2011; Tabert *et al.*, 2006; para una revisión ver Reinvang *et al.*, 2012).

2.2.2.2. Marcadores genéticos

Como ya se ha mencionado, numerosos trabajos sugieren que la presencia del genotipo ApoE4 aumenta el riesgo de desarrollar la EA. De hecho, aproximadamente la mitad de los pacientes diagnosticados con EA son portadores de este alelo (e.g., Caselli *et al.*, 2009). Si efectivamente el DCL constituye la fase prodrómica de la EA, cabría esperar que este genotipo arrojara resultados similares. Sin embargo, los resultados disponibles hasta la fecha son bastante contradictorios. Cuando se minimizan las posibles fuentes de error Tipo I y Tipo II, el genotipo ApoE4 no solo aumenta el riesgo para el diagnóstico de DCL (Brainerd *et al.*, 2011) sino que además, y contrariamente a lo que cabría esperar, se convierte en un factor con mayor carga predictiva para el DCL que para la EA (Brainerd *et al.*, 2013). En línea con estos resultados, un reciente estudio de meta-análisis ha encontrado que la presencia de ApoE4 tiene baja sensibilidad y baja capacidad para predecir la transición de DCL a EA, por lo que se desaconseja su uso como marcador aislado en la práctica clínica (Elias-Sonnenschein *et al.*, 2011).

Una de las posibles razones por las que ApoE4 podría predecir mejor la transición a DCL que la transición a EA es que este polimorfismo genético sea un marcador del deterioro cognitivo inicial que se observa en los sujetos con DCL pero no del deterioro cognitivo más severo que tiene lugar en la EA. Esta hipótesis encuentra soporte en otro estudio de meta-análisis en el que se analizaron las relaciones entre el genotipo ApoE4 y el rendimiento en tareas que evaluaban diferentes dominios cognitivos en personas mayores sanas (Small *et al.*, 2004b). Este estudio encontró una relación significativa entre la presencia de ApoE4 y el bajo rendimiento en tareas de memoria episódica, función ejecutiva y funcionamiento cognitivo global (ver también Caselli *et al.*, 2009). Es importante subrayar que en el estudio de Brainerd *et al.* (2013) citado anteriormente, los sujetos con DCL mostraron un deterioro significativo no solo de la memoria sino también del resto de dominios cognitivos evaluados.

Otro aspecto que puede ser importante y que no se ha considerado en los estudios mencionados anteriormente es la distinción entre genotipos homocigoto y heterocigoto.

Resultados recientes indican que los portadores del alelo $\epsilon 4$ en su forma heterocigota presentan un riesgo mayor de desarrollar DCL, mientras que el alelo homocigoto acelera la progresión de DCL a EA al mismo tiempo que anticipa la ocurrencia de demencia en sujetos con DCL en más de 3 años (Xu *et al.*, 2013). Dado que la forma heterocigota es la más frecuente, parece plausible que ApoE4 resulte más útil para predecir la transición del envejecimiento normal al DCL que para predecir la transición de DCL a EA.

2.2.2.3. Marcadores neuroanatómicos in vivo

Los datos extraídos a partir de la imagen por RM cerebral han arrojado resultados muy prometedores no solo en relación con los cambios asociados a la neurodegeneración incipiente, sino también en relación con la predicción de la tasa anual de cambio asociada a la progresión de esta enfermedad (*e.g.*, de Leon *et al.*, 2007; Drago *et al.*, 2011; para un meta-análisis ver Yang *et al.*, 2012). La mayoría de estos estudios se han centrado en los cambios que afectan a la sustancia gris cerebral, básicamente porque el curso temporo-espacial de la neuropatología de la EA en la sustancia gris está muy bien establecido. No obstante, la sustancia blanca cerebral no escapa a las lesiones neurodegenerativas (Brun & Englund, 1986). Este estudio ha identificado una pérdida parcial de axones, de las vainas de mielina que los recubren y de las células que las producen (oligodendrocitos), además de una reacción glial moderada en tejido cerebral *post mortem* de pacientes con EA. Afortunadamente, el avance tecnológico que se ha producido en la última década nos permite describir con técnicas *in vivo* cómo las alteraciones de la microestructura de la sustancia blanca contribuyen al deterioro cognitivo que acompaña al envejecimiento normal y patológico.

Los estudios transversales que han evaluado la utilidad de la RM en la detección de atrofas asociadas a la EA en sus fases prodrómicas y clínicas concluyen que las regiones del LTM del hemisferio izquierdo son las más afectadas (Yang *et al.*, 2012). Este hallazgo es evidente tanto si se utilizan medidas de volumetría regional obtenidas a partir de la delimitación manual de regiones de interés (de Leon *et al.*, 2007; deToledo-Morrell *et al.*, 2000b; Dickerson *et al.*, 2001;

Du *et al.*, 2001; Killiany *et al.*, 2002; Pennanen *et al.*, 2004; Saykin *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2000) como técnicas más sofisticadas basadas en la segmentación y parcelación automática de dichas regiones (Becker *et al.*, 2006; Colliot *et al.*, 2008; Du *et al.*, 2007; Fischl & Dale, 2000; Risacher *et al.*, 2009). Incluso las herramientas de segmentación semiautomática aportan datos muy similares (Jack *et al.*, 2008; Pennanen *et al.*, 2005; Trivedi *et al.*, 2006). Entre estas técnicas destacan la morfometría basada en el vóxel (VBM en inglés) y la morfometría basada en tensores (TBM en inglés). La principal diferencia es que la primera estima el volumen de sustancia gris a nivel local mientras que la segunda muestra diferencias en la densidad o concentración de sustancia gris.

Estas técnicas han demostrado ser igualmente efectivas a la hora de predecir la probabilidad de conversión de DCL a EA en estudios transversales y la tasa anual de cambio en estudios longitudinales. El volumen y la densidad de sustancia gris del hipocampo así como el volumen y el espesor cortical de diferentes regiones del LTM han mostrado ser marcadores de neuroimagen sensibles a la transición entre el DCL y la EA (Apostolova *et al.*, 2006b; Bozzali *et al.*, 2006; Chételat *et al.*, 2005; Devanand *et al.*, 2007; Eskildsen *et al.*, 2013; Kinkingnehun *et al.*, 2008; Risacher *et al.*, 2009; Visser *et al.*, 2002; Whitwell *et al.*, 2008); mientras que la atrofia del hipocampo se presenta como la medida que mejor predice la tasa anual de cambio que acompaña a la progresión de las lesiones neurodegenerativas asociadas a la EA (Barnes *et al.*, 2009; Erten-Lyons *et al.*, 2006; Risacher *et al.*, 2010; Sluimer *et al.*, 2008; Stoub *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2011), especialmente en el hemisferio izquierdo (ver meta-análisis de Ferreira *et al.*, 2011).

La mayor tasa anual de cambio se observa en pacientes diagnosticados con EA, en personas con DCL que desarrollan la enfermedad en el transcurso de un año (Risacher *et al.*, 2010), y en personas con DCLa (Zhang *et al.*, 2011). Aunque estos estudios muestran que la atrofia puede incluir otras estructuras cerebrales además del hipocampo, las medidas de densidad y volumen de esta región son las que requieren de un menor número de sujetos para detectar un 25% de los cambios cerebrales (Risacher *et al.*, 2010). Asimismo, conviene resaltar otro aspecto puesto

de manifiesto por este estudio, y es el hecho de que la utilidad de los marcadores neuroanatómicos proporcionada por la RM depende de la fase en la que se encuentre la enfermedad. Si bien el volumen y la densidad de sustancia gris del hipocampo son descriptores útiles para evaluar la neurodegeneración en momentos iniciales del proceso neurodegenerativo, el volumen y el espesor cortical de distintas regiones dentro del LTM parecen indicadores más adecuados para evaluar la tasa anual de atrofia.

Como se comentó al comienzo de este apartado, las alteraciones macroestructurales de la sustancia gris cerebral se acompañan además de anomalías en la microestructura de la sustancia blanca (Alves *et al.*, 2012). Tal como cabría esperar de los estudios realizados con tejido cerebral *post mortem* (Brun & Englund, 1986), los resultados derivados de las imágenes con tensor de difusión (DTI) por RM también sugieren que la sustancia blanca está afectada en pacientes con EA y en personas mayores con DCL (Chua *et al.*, 2008; Stebbins & Murphy, 2009), así como en personas mayores sanas con predisposición genética y familiar de desarrollar esta enfermedad neurodegenerativa (Gold *et al.*, 2012). Al contrario de lo que ocurre en personas mayores sanas, en las que los cambios en la microestructura de la sustancia blanca se restringen fundamentalmente a regiones cerebrales anteriores, los cambios de sustancia blanca asociados a la patología de la EA afectan sobre todo a regiones posteriores del cerebro como la corteza parahipocámpal, el esplenio del cuerpo calloso y el cíngulo posterior, tractos de fibras nerviosas especialmente relevantes para la memoria episódica y para las funciones ejecutivas (revisado en Chua *et al.*, 2008; Radanovic *et al.*, 2013; Stebbins & Murphy, 2009).

Las escasas evidencias disponibles hasta el momento sugieren que los descriptores derivados del análisis de la DTI, aún cuando no parecen discriminar entre los diferentes tipos de DCL (Dimitra *et al.*, 2013), son capaces de diferenciar el envejecimiento normal de las fases preclínicas de la EA cuando se combinan con datos de volumen y espesor cortical (Wang *et al.*, 2009). La capacidad predictiva de los cambios en la microestructura de la sustancia blanca podría incluso superar a la mostrada por las alteraciones macroestructurales de la sustancia

gris o por los biomarcadores obtenidos a partir del LCR (Douaud *et al.*, 2013; Fellgiebel & Yakushev, 2011; Scola *et al.*, 2010; Selnes *et al.*, 2013; Zhuang *et al.*, 2012). Por ejemplo, uno de estos estudios ha revelado que la reducción de volumen de sustancia gris en el hipocampo izquierdo no es suficiente para determinar la progresión de los sujetos con DCL (Douaud *et al.*, 2013). Este estudio incorporó dos grupos de sujetos con DCL, homogéneos en cuanto al deterioro cognitivo global, al déficit episódico, a la duración de los síntomas y a la proporción de portadores de ApoE4. La única diferencia fue que uno de los grupos desarrolló la EA 2 años después de la primera evaluación mientras que el otro permaneció clínicamente estable durante al menos tres años desde la primera evaluación. Si bien al inicio ambos grupos mostraron un nivel de atrofia similar en la sustancia gris del hipocampo, solo el grupo que progresó hacia la EA mostró alteraciones de la microestructura de la sustancia blanca en esta misma región. Estos cambios en la microestructura del hipocampo se vieron además acompañados por atrofas que afectaron a la sustancia blanca del fórnix y a su fimbria izquierda así como al fascículo longitudinal superior (Douaud *et al.*, 2013). El hecho de que el fascículo longitudinal superior conecte los diferentes lóbulos de un mismo hemisferio podría reconciliar la aparente discrepancia observada en la EA entre las alteraciones estructurales que normalmente se observan en el hipocampo y el daño funcional que suele afectar a áreas heteromodales (Buckner *et al.*, 2005, 2009; Greicius *et al.*, 2004; Lustig *et al.*, 2003; Schröeter *et al.*, 2009; Villain *et al.*, 2008).

Finalmente, y más allá de la capacidad para predecir la progresión de la enfermedad, se ha encontrado que los cambios en la sustancia blanca son independientes de los que se producen en la sustancia gris cerebral. En concreto, se ha mostrado que los daños en la sustancia blanca persisten en las personas mayores con DCL después de controlar los efectos del volumen total de sustancia gris (Delano-Wood *et al.*, 2012; Salat *et al.*, 2010; Stricker *et al.*, 2009), del espesor cortical local (Selnes *et al.*, 2013), o del espesor cortical promedio de un conjunto de regiones corticales que presentan alteraciones en la EA (Stricker *et al.*, 2013). Este hecho explicaría por qué la combinación de estos dos marcadores puede resultar más beneficiosa en la predicción de la progresión de la EA (Douaud *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013).

Aunque se desconoce la causa de la pérdida de integridad de la microestructura de la sustancia blanca, se ha sugerido que esta podría ser un signo de la astrocitosis que caracteriza a la EA y que está relacionada con la deposición de agregados de A β en la sustancia gris (Cairns *et al.*, 1992; Pike *et al.*, 1994; Santillo *et al.*, 2011; Selkoe, 1991; Steele & Robinson, 2010). Otra posibilidad es que la patofisiología siga la teoría de la retrogénesis, de tal manera que aquellos tractos que son los últimos en finalizar el proceso de mielinización sean los primeros afectados por la EA (Bartzokis, 2004; Stricker *et al.*, 2009).

2.2.2.4. Marcadores neurofuncionales

Las medidas funcionales proporcionadas por técnicas como el PET poseen un importante potencial diagnóstico debido a su carácter relativamente no invasivo y a la posibilidad de usarlas en estudios de seguimiento. Esta técnica permite determinar los niveles de consumo metabólico regional, especialmente en estado de reposo, y proporciona un marcador indirecto de la integridad sináptica en regiones concretas del cerebro. Los radioligandos más empleados en la EA son la 2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (FDG) y el PIB. El PET-PIB permite identificar la concentración de A β en el cerebro, mientras que el PET-FDG muestra el consumo de glucosa a nivel regional.

Los sujetos con DCL que convierten a EA presentan previamente al diagnóstico una reducción de FDG en la corteza temporal izquierda y bilateralmente en regiones frontoparietales, así como una alta retención de PIB en la corteza frontotemporal y cingulada (Brück *et al.*, 2013). La retención de PIB en la corteza frontal y en la corteza cingulada anterior es especialmente evidente en los que muestran una tasa de conversión más rápida (Okello *et al.*, 2009). Aunque los dos métodos parecen igualmente sensibles en cuanto a su capacidad predictiva, estos aumentan su eficacia cuando se comparan con marcadores neuroanatómicos que afectan a regiones del LTM (Brück *et al.*, 2013; ver también Schaffer *et al.*, 2013; Tosun *et al.*, 2013; Waragai *et al.*, 2009). Sin embargo, otros estudios han mostrado lo contrario, debido quizás a que la capacidad predictiva de diferentes marcadores varía con la edad (Schmand *et al.*, 2012)

o con la variedad de poliformismos de ApoE. En relación con esto último, evidencias recientes han mostrado que mientras que los marcadores neuroanatómicos guardan una estrecha relación con el diagnóstico de DCL, la acumulación de A β estaría más ligada a la presencia del genotipo ApoE4, y que dicha relación se manifiesta tanto en personas mayores sanas como en personas con DCL (Risacher *et al.*, 2013). Por último, también es posible que la capacidad predictiva de estos dos tipos de marcadores dependa del estadio de la EA en que se encuentre el paciente. Así, se ha visto que el PET BF-227 (alta afinidad por las fibrillas de A β) predice mejor la conversión de DCL a EA, mientras que los marcadores neuroanatómicos del LTM predicen mejor la progresión de la severidad de la enfermedad (Waragai *et al.*, 2009).

La técnica de la RM funcional (RMf) también ha aportado datos a favor de una menor actividad de la corteza cingulada posterior en personas mayores con DCL (Minoshima *et al.*, 1997; Nestor *et al.*, 2003; Pengas *et al.*, 2010), una de las regiones donde más acumulación de A β se ha observado en fases tempranas de la EA (Rowe *et al.*, 2007; Ziolkó *et al.*, 2006). Pero ninguno de estos estudios ha evaluado la progresión de este marcador a lo largo del tiempo ni tampoco su capacidad predictiva. Por el contrario, los estudios de RMf realizados en estado de reposo cerebral han observado que tanto en personas mayores con DCL como en pacientes en fases tempranas de la EA se produce un decremento de la conectividad funcional en regiones posteriores de la “red por defecto”, concretamente en el precuneus (Agosta *et al.*, 2012; Damoiseaux *et al.*, 2012; Greicius *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 2012; Qi *et al.*, 2010; Rombouts *et al.*, 2005; Sorg *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2010) y en diferentes regiones de la corteza parietal inferior (Liang *et al.*, 2012); mientras que en la parte anterior y ventral se produce un incremento de activación que solo es evidente en los pacientes con EA (Agosta *et al.*, 2012; Damoiseaux *et al.*, 2012; Rombouts *et al.*, 2005; Supekar *et al.*, 2008). En cambio, cuando la enfermedad progresa se produce una disminución de la conectividad funcional que afecta a todo el circuito cerebral de la “red por defecto” (Damoiseaux *et al.*, 2012).

La secuencia temporal descrita no coincide exactamente con las predicciones que se derivarían de los estudios histopatológicos ni con el grado de deterioro cognitivo asociado a

cada una de las partes afectadas en la “red por defecto”. De forma muy general, podría decirse que las regiones anteriores de este circuito estarían más relacionadas con el procesamiento auto-referencial, las regiones posteriores con la memoria autobiográfica y el reconocimiento basado en la familiaridad, mientras que la parte ventral de la “red por defecto” estaría más vinculada a la construcción de una escena mental basada en la memoria (Andrews-Hanna *et al.*, 2010; Qin *et al.*, 2011; Uddin *et al.*, 2009; Whitfield-Gabrieli *et al.*, 2011). Cabría esperar entonces que tanto la parte posterior como la ventral, más directamente relacionadas con la memoria y las primeras en ser afectadas por la neuropatología de la EA, mostraran una mayor desconexión en las fases prodrómicas e iniciales de la enfermedad. Sin embargo, la parte ventral llega incluso a mostrar el resultado opuesto. Aunque aún no se dispone de una explicación plausible para este resultado, sí que se han encontrado evidencias que sugieren que las alteraciones en la organización funcional de esta “red por defecto” reflejan, al menos en parte, un deterioro de la conectividad estructural (*e.g.*, Bozzali *et al.*, 2011; Fellgiebel *et al.*, 2005; Lo *et al.*, 2010; Stahl *et al.*, 2007), medida que por cierto ha mostrado tener una alta capacidad predictiva de la progresión de la enfermedad (Deppe *et al.*, 2007; Duning *et al.*, 2009; Shao *et al.*, 2012).

En resumen, los marcadores proporcionados por el PET, sobre todo cuando se usan radioligandos afines al A β , poseen una elevada capacidad predictiva, llegando en ocasiones a superar a los marcadores neuroanatómicos derivados de la RM. Sin embargo, estos marcadores neurofuncionales no están disponibles en todos los hospitales, y además, su pronóstico disminuye en pacientes mayores de 75 años, en cuyo caso es preferible recurrir a los marcadores neuroanatómicos y neuropsicológicos (Schmand *et al.*, 2012).

2.2.2.5. Marcadores en líquido cefalorraquídeo (LCR)

Las concentraciones de A β y de proteína tau están íntimamente relacionados con la presencia de placas seniles y con los ONF que caracterizan a la EA (Selkoe, 2000). De hecho, son muchas las evidencias que han mostrado niveles elevados de proteína tau (*e.g.*, Andreasen *et*

al., 2001; Blennow *et al.*, 2001; Itoh *et al.*, 2001; Demarin *et al.*, 2011; Shoji *et al.*, 2002; Sunderland *et al.*, 1999; 2003) y niveles bajos de A β en LCR de pacientes con EA (Andreasen *et al.*, 2001; Fagan *et al.*, 2006; Galasko *et al.*, 1998; Mehta *et al.*, 2000; Motter *et al.*, 1995; Sunderland *et al.*, 2003). Esta disminución de los niveles de A β estaría reflejando alteraciones en la acumulación del péptido tanto en el cerebro como en los vasos sanguíneos cerebrales (Strozyk *et al.*, 2003). Resultados similares se han observado en personas mayores con DCL que más tarde han desarrollado la EA (Herukka *et al.*, 2005; Hansson *et al.*, 2006; Parnetti *et al.*, 2012). En el caso particular del A β , los niveles anormales pueden llegar a detectarse entre 5 y 10 años antes de que se diagnostique la enfermedad (Buchhave *et al.*, 2012).

Si bien es cierto que la elevación de la proteína tau en el LCR de personas con EA viene a reflejar el proceso neuropatológico que ocurre en el cerebro de estos pacientes, es también importante resaltar que esta proteína no es específica de la EA a pesar de que correlaciona con la gravedad de la sintomatología típica de esta patología (Demarin *et al.*, 2011). Aunque no son muchos los estudios que han evaluado la presencia de estos biomarcadores en individuos con DCL, recientemente se ha encontrado que los que terminan desarrollando la EA muestran niveles más altos de A β y más bajos de proteína tau que las personas mayores sanas (Rosén *et al.*, 2013; Tsitsopoulos & Marklund, 2013). El índice que parece predecir mejor la conversión de DCL a EA es la razón entre A β_{1-42} y la cantidad de proteína tau fosforilada (Parnetti *et al.*, 2012).

Aun cuando los marcadores encontrados en el LCR muestren una alta sensibilidad para el diagnóstico de la EA y una razonable capacidad predictiva, no son capaces de discriminar entre los diferentes tipos de demencia (Blennow & Hampel, 2003) y su valor pronóstico desaparece en personas mayores de 75 años (Schmand *et al.*, 2012).

2.2.2.6. Combinación de marcadores

Estudios recientes que han comparado el valor predictivo de los marcadores más relevantes de la EA han encontrado que los descriptores neuroanatómicos son los más sensibles, seguidos

del ApoE, el PET-FDG y finalmente los marcadores en LCR (Yu *et al.*, 2012), mientras que otros estudios no encuentran diferencias cuando el DCL es de tipo amnésico pero sí cuando es de tipo no amnésico (Vos *et al.*, 2013).

El valor pronóstico de estos biomarcadores aumenta sensiblemente cuando se utilizan de forma combinada, ya sea dentro de una misma modalidad o entre diferentes modalidades. Por ejemplo, si bien es cierto que el PET-PIB muestra un mejor valor pronóstico que el PET-FDG en personas mayores con DCL, la capacidad predictiva incrementa cuando ambos se combinan en una región cortical particular como el precuneus, o cuando el PET-PIB se utiliza como marcador en portadores homocigotos de ApoE4, o en personas con DCL mayores de 75 años (Hatashita & Yamasaki, 2013). El hipometabolismo de la corteza cingulada posterior, identificado con el PET-FDG, asociado al DCL, podría incrementar su valor pronóstico cuando se combina con la edad, el género, las puntuaciones en el MMSE y el genotipo ApoE (Arbizu *et al.*, 2013). Un resultado similar se observa cuando se utilizan como marcadores combinados el hipometabolismo parietal y la cantidad total de tau en LCR (Choo *et al.*, 2013).

Los marcadores neuroanatómicos también incrementan su capacidad para predecir la EA a partir del DCL cuando se combinan con la concentración de A β y tau en LCR (Brys *et al.*, 2009; Prestia *et al.*, 2013; Westman *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012) y/o con el PET-FDG (Galluzi *et al.*, 2013; Schaffer *et al.*, 2013), o cuando se combinan con marcadores cognitivos (Schmand *et al.*, 2012). Los estudios que han evaluado la combinación de diferentes marcadores sugieren que la mejor opción resulta de combinar marcadores neuroanatómicos, genéticos y neuropsicológicos (Yu *et al.*, 2012). Aunque recientemente se ha propuesto que la capacidad predictiva de los diferentes marcadores fluctúa a lo largo de la enfermedad, siendo los marcadores del A β los primeros en presentar alteraciones, seguidos de los marcadores de tau en LCR, PET-FDG y los marcadores neuroanatómicos (Trojanowski *et al.*, 2010).

3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

La identificación temprana del fenotipo de una enfermedad neurodegenerativa es fundamental no solo de cara a su diagnóstico precoz sino también a su terapéutica. Este fenotipo resulta de la disfunción producida en grupos de neuronas que muestran una vulnerabilidad selectiva ante un funcionamiento aberrante en el metabolismo de una o más proteínas. Factores genéticos y epigenéticos pueden modificar la vulnerabilidad de estas poblaciones de neuronas haciendo que la proteinopatía presente una selectividad regional para cada trastorno neurodegenerativo (Cummings, 2003).

De lo anterior se extrae que las manifestaciones clínicas de una forma particular de demencia dependerán de cuáles sean las regiones cerebrales que muestren mayor vulnerabilidad a los mecanismos patogénicos que actúan sobre dicha proteína o conjunto de proteínas. En el caso de la EA, se producen deposiciones anómalas de la proteína A β y de la proteína tau en forma de placas seniles y de ONF, respectivamente. Independientemente de cuál de estos dos eventos aparezca primero, son los ONF los que continúan desarrollándose a medida que la enfermedad progresa, y los que correlacionan en mayor medida con el nivel de deterioro cognitivo no solo en pacientes diagnosticados con EA (Arriagada *et al.*, 1992; Crystal *et al.*, 1988; para una revisión ver Nelson *et al.*, 2012) sino también en personas mayores con DCL (Guillozet *et al.*, 2003). Aunque algunas evidencias sugieren que la acumulación de A β se sigue de atrofas en esta estructura que correlacionan con una pérdida de la memoria episódica (Mormino *et al.*, 2009).

Por tanto, no es de extrañar que si el hipocampo es una de las regiones más vulnerables a la taupatía, sea precisamente la memoria episódica la que se vea principalmente afectada en las fases más tempranas de la enfermedad. Sin embargo, no todas las estructuras que integran el hipocampo son igualmente vulnerables a las proteinopatías que caracterizan a la EA. De hecho, estudios realizados con tejidos cerebrales *post mortem* de personas con EA han mostrado que la muerte neuronal es mucho mayor en la capa CA1 que en la capa II de la

corteza entorrinal, y que el número de ONF predice mucho mejor dicha muerte neuronal en CA1 que en la corteza entorrinal (Von Gunten *et al.*, 2006). Asimismo, estudios morfométricos *in vivo* realizados con RM estructural sugieren que la parte lateral del hipocampo superior, que se corresponde fundamentalmente con CA1, presenta un mayor grado de atrofia en sujetos con DCL y pacientes con EA más mayores, mientras que la degeneración del subículum es más frecuente en personas mayores cognitivamente intactas (Chételat *et al.*, 2008; Yassa *et al.*, 2010).

Estas evidencias nos sugieren que dentro del propio hipocampo, parece que CA1 podría ser una de las regiones más vulnerables a la presencia de la taupatía asociada a la EA. Los modelos computacionales sostienen que CA1, durante el aprendizaje, actuaría como un 'recodificador' de los patrones de actividad proporcionados por CA3 a través de las colaterales de Schaffer, y por la corteza entorrinal a través de la vía perforante, hecho que favorecería su papel como 'traductor' durante los procesos de recuperación de la memoria gracias a las proyecciones que envía a diferentes regiones neocorticales a través de la corteza entorrinal (e.g., O'Reilly & McClelland, 1994; Rolls, 2010; Rolls & Kesner, 2006). Esta función es crucial en el caso de las memorias asociativas, cuando el evento episódico ha de reproducirse a partir de uno o varios elementos que se asociaron durante la codificación, y explicaría que las personas mayores con DCL, que también presentan mayor atrofia en CA1 (Chételat *et al.*, 2008; Yassa *et al.*, 2010), muestren un deterioro muy evidente cuando se trata de recuperar relaciones entre ítems o entre un ítem y su contexto (Troyer *et al.*, 2008).

Sin embargo, no todos los resultados van en esta dirección. Por ejemplo, Yassa *et al.* (2010) encontraron que la pérdida de integridad anatómica y funcional de CA3 y del giro dentado correlacionaba con el deterioro de la memoria que presentaban los individuos con DCLa. Por el contrario, el mismo estudio no fue capaz de encontrar una relación similar entre la memoria y la disminución de volumen de CA1. Algo parecido ocurre en relación con la corteza entorrinal. Aunque hay evidencias que indican que la disminución de volumen de la corteza entorrinal está se relaciona con el deterioro de la memoria en mayores sanos (Cardenas *et al.*, 2011), ningún

estudio hasta la fecha ha sido capaz de encontrar esta relación en sujetos con DCL (Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009) o en pacientes con EA (di Paola *et al.*, 2007). Este resultado nos estaría indicando que el daño anatómico asociado al deterioro cognitivo podría no estar producido de forma específica por las proteinopatías que caracterizan a la EA. Esta falta de especificidad resulta llamativa si tenemos en cuenta que i) los ONF que aparecen en la EA comienzan a formarse en la corteza entorrinal (Braak & Braak, 1991, 1995; Gómez-Isla *et al.*, 1996) antes de extenderse al subículum y a la capa CA1 (Schönheit *et al.*, 2004); ii) que la integridad anatómica de la corteza entorrinal es la que mejor predice la evolución de la EA (deToledo-Morrell *et al.*, 2004; Dickerson *et al.*, 2001; Killiany *et al.*, 2002; Stoub *et al.*, 2005; ver también Devanand *et al.*, 2007 y Pennanen *et al.*, 2004); y iii) que resultados procedentes de estudios animales apoyan el papel de la capa II de la corteza entorrinal a la hora de asociar un evento con su contexto (Eichenbaum & Lipton, 2008), componente de la memoria especialmente afectado en personas mayores con DCL (Troyer *et al.*, 2008).

Es posible que la mencionada falta de especificidad y la ausencia de relación entre el deterioro de la memoria y las atrofas de CA1 y de la corteza entorrinal se deban a que la mayoría de estos estudios han utilizado tareas de memoria no asociativa. Antes de realizar el presente trabajo de Tesis, esta relación solo se había evaluado en personas mayores cognitivamente intactas (Rodrigue & Raz, 2004). Tras eliminar los efectos de la edad sobre el volumen de estas estructuras, solo la tasa de cambio anual en el volumen de la corteza entorrinal fue capaz de predecir el deterioro de la memoria asociativa. Se desconoce si esta relación podría extenderse al hipocampo en las fases prodrómicas de la EA y si dicha relación sería capaz de distinguir personas con DCL de mayores sanos. Sobre la base de estudios previos, es posible que las diferencias entre grupos solo puedan detectarse utilizando procedimientos más sensibles a las inferencias estadísticas y que vayan más allá de las medidas del volumen global de una región de interés. En favor de esta hipótesis, estudios previos han detectado asociaciones significativas entre la disminución de volumen de la corteza entorrinal y el deterioro cognitivo mediante el uso de procedimientos de análisis morfométricos, mostrando cambios de volumen (Cardenas *et al.*, 2011; di Paola *et al.*, 2007; Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009)

o de espesor cortical (Burggren *et al.*, 2011), pero no del volumen global de la corteza entorrinal (Du *et al.*, 2003; Reitz *et al.*, 2009; Stoub *et al.*, 2006).

Por lo tanto, nuestro primer objetivo consistirá en evaluar, mediante la utilización de técnicas de morfometría basada en tensores, si la integridad anatómica de la corteza entorrinal y de las diferentes regiones que integran el hipocampo (*i.e.*, subíulum, CA y giro dentado) correlaciona de forma diferencial con el rendimiento en una tarea de memoria asociativa en función de que las personas mayores presenten o no un deterioro de la memoria objetivable. Sobre la base de lo expuesto anteriormente, se plantea la hipótesis de que los cambios de volumen que afecten fundamentalmente a la corteza entorrinal y a la región CA del hipocampo deberían mostrar una correlación positiva con el deterioro de la memoria asociativa, y que dicha correlación debería ser más evidente en personas con DCLa que en controles sanos.

Estudios realizados en adultos jóvenes han mostrado que la memoria asociativa mejora cuando la codificación se produce en un contexto semánticamente congruente (Atienza *et al.*, 2011; Crespo-García *et al.*, 2010; Staresina *et al.*, 2009). Aunque se han encontrado resultados similares en personas mayores cognitivamente intactas (Crespo-García *et al.*, 2012), se desconoce si dicho efecto podría extrapolarse a personas con DCLa. El segundo objetivo del presente estudio será por tanto determinar si la congruencia semántica es capaz de eliminar o disminuir el déficit asociativo existente en personas mayores con DCLa cuando se compara con sus homólogos controles, y en caso negativo, determinar si el grado de atrofia de la corteza entorrinal y/o del hipocampo guarda alguna relación con dicho efecto.

En un estudio previo en el que se evaluaron los cambios en las oscilaciones cerebrales inducidos por la codificación de asociaciones (cara-localización espacial) en personas jóvenes y en personas mayores sanas, se puso de manifiesto que el efecto beneficioso de la congruencia sobre el rendimiento en la prueba de memoria asociativa dependía de regiones del LTM como el giro parahipocampal derecho (Crespo-García *et al.*, 2012). Debido a la escasa resolución espacial del EEG, este estudio no fue capaz de determinar si el efecto de la congruencia semántica era igualmente dependiente del hipocampo. Pero si tenemos en cuenta

la capacidad predictiva del daño de las conexiones entre el giro parahipocampal y el hipocampo (Douaud *et al.*, 2013), así como de la disminución del volumen del hipocampo informadas con anterioridad en personas mayores con DCL (Apostolova *et al.*, 2006b; Bozzali *et al.*, 2006; Chételat *et al.*, 2005; Devanand *et al.*, 2007; Eskildsen *et al.*, 2013; Kinkingnehun *et al.*, 2008; Risacher *et al.*, 2009; Visser *et al.*, 2002; Whitwell *et al.*, 2008), podríamos predecir que las diferencias de grupo en lo que a la congruencia se refiere deberían estar relacionadas con la pérdida de integridad anatómica en alguna/s de las estructuras del hipocampo.

Para llevar a cabo estos dos objetivos, se les ha pedido a un grupo de personas mayores con DCLa y a otro grupo de controles mayores sanos sin deterioro cognitivo, que recordasen la localización espacial de caras famosas que durante la codificación podían haber ido precedidas o no por una clave semánticamente congruente. A partir de la prueba de reconocimiento se han extraído dos índices de memoria, uno relacionado con la memoria asociativa y otro con el efecto beneficioso de la congruencia semántica. A continuación se ha evaluado en qué medida los cambios de volumen de diferentes estructuras del hipocampo y de la corteza entorrinal podrían estar relacionados con los cambios en los dos índices de memoria anteriormente mencionados.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Sujetos

La muestra incluyó 61 sujetos distribuidos en dos grupos, 29 controles sanos desde un punto de vista neurológico y cognitivo y 32 personas mayores con DCLa. Todos los participantes del estudio fueron reclutados en la Unidad de Demencia del Servicio de Neurología del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

Los participantes firmaron un consentimiento informado previamente a su inclusión en el estudio. Los protocolos experimentales empleados en esta investigación fueron previamente aprobados por el Comité Ético de Investigación con humanos de la Universidad Pablo de Olavide, y por el Comité de Investigación Clínica del Hospital Universitario Virgen del Rocío. Los procedimientos utilizados respetan los principios de la Declaración de Helsinki (1975, revisados en 2000).

El diagnóstico de DCLa se estableció a partir de los criterios propuestos por Petersen *et al.* (1999): i) quejas subjetivas de memoria preferiblemente confirmadas por un informador; ii) deterioro objetivo de la memoria confirmado mediante pruebas neuropsicológicas (1,5 desviaciones típicas por debajo del rendimiento cognitivo medio en personas mayores sanas en el mismo rango de edad); iii) puntuación de 0,5 en la Escala de Demencia Clínica (CDR; Hughes *et al.*, 1982); iv) nivel de independencia normal evaluado con las Escalas de Actividades Básicas e Instrumentales de la Vida Diaria validadas para población española (Böhm *et al.*, 1998); y v) ausencia de criterios diagnósticos de demencia establecidos por el DSM-IV.

Las pruebas específicas de memoria –memoria inmediata y diferida– incluidas en la evaluación neuropsicológica fueron extraídas de la versión española de los Subtests de Memoria Lógica que forman parte de la Escala de Memoria de Wechsler, 3ª Edición (TEA, 1999). El subtest de

Memoria Lógica para el *recuerdo inmediato* consiste en dos historias que inmediatamente después de habérselas leído al paciente este debe recordar. El subtest de Memoria Lógica para el *recuerdo diferido* consiste en recordar las mismas historias tras un intervalo de 30 minutos. Se emplearon puntuaciones de corte de 1,5 desviaciones típicas por debajo de la media para su edad. También se administró el Mini Examen Cognoscitivo (*Mini-Mental State Examination* (MMSE) en terminología anglosajona) en su versión adaptada y validada en población española (Lobo *et al.*, 1979), con el objetivo de valorar la función cognitiva global en cada participante.

A todos los sujetos (controles y DCLa) se les realizó una detallada exploración neurológica (por el mismo neurólogo) con el fin de descartar patologías neurológicas que pudieran afectar a la estructura y/o función cerebral. Paralelamente, se adquirieron imágenes de resonancia magnética (RM) cerebral en cada uno de los sujetos para descartar lesiones anatómicas que posteriormente fueron utilizadas como criterios de exclusión (infartos cerebrales extensos, tumor cerebral, esclerosis del hipocampo y/o malformaciones vasculares). Aquellos individuos que presentaron isquemias relevantes (puntuaciones ≥ 2) en la sustancia blanca periventricular y/o profunda, determinado mediante la Escala de Cambios en la Sustancia Blanca relacionados con la Edad (Fazekas *et al.*, 1987), fueron excluidos del estudio. Se descartaron igualmente causas secundarias del deterioro cognitivo mediante pruebas de laboratorio (hemograma, vitamina B12/folato y función tiroidea). La sintomatología depresiva se descartó, tanto en controles como en DCLa, mediante la Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage baremada en población española (utilizándose como criterio de exclusión puntuaciones ≥ 5) (Martínez de la Iglesia *et al.*, 2002). La presencia (o historial clínico previo) de enfermedades neurológicas (traumatismo cráneo-encefálico, ictus, epilepsia), psiquiátricas (depresión, episodios psicóticos, historia de consumo crónico de alcohol y/u otras adicciones de drogas o fármacos) o de otra índole (renal, hepática, pulmonar y/o endocrina), así como el uso de medicación que afectara explícitamente a la función cognitiva (e.g., inhibidores de la acetilcolinesterasa, benzodiacepinas y antidepresivos tricíclicos) fueron también motivo de exclusión.

Los criterios de inclusión para el grupo control fueron: i) ausencia de un deterioro objetivo de la memoria evaluado con las mismas pruebas neuropsicológicas que se emplearon en los individuos con DCLa, ii) puntuación global de 0 en la escala CDR, y iii) actividades de la vida diaria conservadas, evaluadas con la misma escala que se utilizó en los sujetos con DCLa.

4.2. Estímulos

Se presentaron un total de 64 caras de personas famosas (actores, políticos, músicos y otros personajes de la televisión) y 32 caras de personas no famosas. Todas las caras fueron seleccionadas en internet cuidando que ninguna de ellas mostrara elementos ornamentales como sombreros, gafas de sol o pañuelos. Aún así, y para evitar la influencia de elementos perceptivos adicionales al propio rostro, solo se seleccionó el óvalo de la cara tomando como puntos de referencia la barbilla y el trago del pabellón auricular. Además, siempre que las imágenes lo requirieron, fueron rotadas para que los ojos quedasen alineados con el eje horizontal. Finalmente, todas las imágenes se homogeneizaron a la misma escala de grises y con el mismo nivel de luminancia.

Las caras incluidas finalmente en la tarea de memoria asociativa se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos en un estudio piloto llevado a cabo con 20 personas mayores. En este estudio se presentaron 288 nombres de personas famosas junto a tres claves biográficas que incluían la profesión e información adicional relacionada con la profesión (por ejemplo, el título de una canción, el nombre de un programa de televisión, o la afiliación a un partido político). En cada ocasión, los participantes debían decir si conocían al personaje famoso a partir del nombre. En caso afirmativo, debían indicar si conocían la información biográfica proporcionada sobre el personaje. Finalmente se seleccionaron los nombres y dos claves biográficas de 96 personas famosas siempre y cuando hubieran sido reconocidas por al menos el 75% de los participantes.

A continuación, se asignaron 32 caras de estas personas famosas a la condición de congruencia semántica y otras 32 caras a la condición de incongruencia semántica. Además, las imágenes se ordenaron en función de la cantidad de sujetos experimentales que habían reconocido 3 o 2 de las claves biográficas presentadas, de manera que las dos condiciones de congruencia fueron homogéneas con respecto a este criterio.

Por último, se recurrió a internet para encontrar 32 caras de personas no famosas. Se cuidó que las caras seleccionadas para las tres condiciones fueran homogéneas en cuanto al género, edad, apariencia física, expresión emocional (neutra o positiva), y otros aspectos adicionales como el llevar gafas correctoras de la visión y/o barba o bigote.

4.3. Paradigma experimental

Cada participante realizó tres tareas en dos sesiones consecutivas. La Figura 5 muestra un ensayo de cada una de las tareas. La primera sesión, también denominada *fase de estudio*, incluyó una tarea de congruencia semántica; mientras que la segunda sesión, o *fase de memoria*, incluyó una prueba de *priming* conceptual y una prueba de memoria de reconocimiento visoespacial.

En todas las tareas, tal como se muestra en la Figura 5, tanto la información biográfica como las caras se enmarcaron dentro de un recuadro blanco con el mismo fondo negro de la pantalla. Durante la tarea de congruencia semántica, se presentaron caras de personas famosas y no famosas en una localización espacial de entre cuatro posibles. Estas caras fueron precedidas por una clave biográfica en la misma localización espacial que la cara. La información biográfica proporcionada por la clave podía corresponderse (congruencia semántica) o no (incongruencia semántica) con la persona famosa que representaba la cara (Figura 5A). La mitad de las caras famosas fueron congruentes y la otra mitad incongruentes, mientras que las caras no famosas siempre fueron incongruentes desde el punto de vista semántico. Para controlar que los participantes fueran expuestos al mismo número de claves

biográficas en relación con cada una de las caras famosas presentadas, las claves asociadas a las caras de las personas famosas en la condición de incongruencia semántica se usaron como claves para las caras de personas no famosas. Así, las diferencias entre las dos condiciones experimentales se podrían atribuir exclusivamente a la existencia o no de una relación semántica entre la clave y la cara.

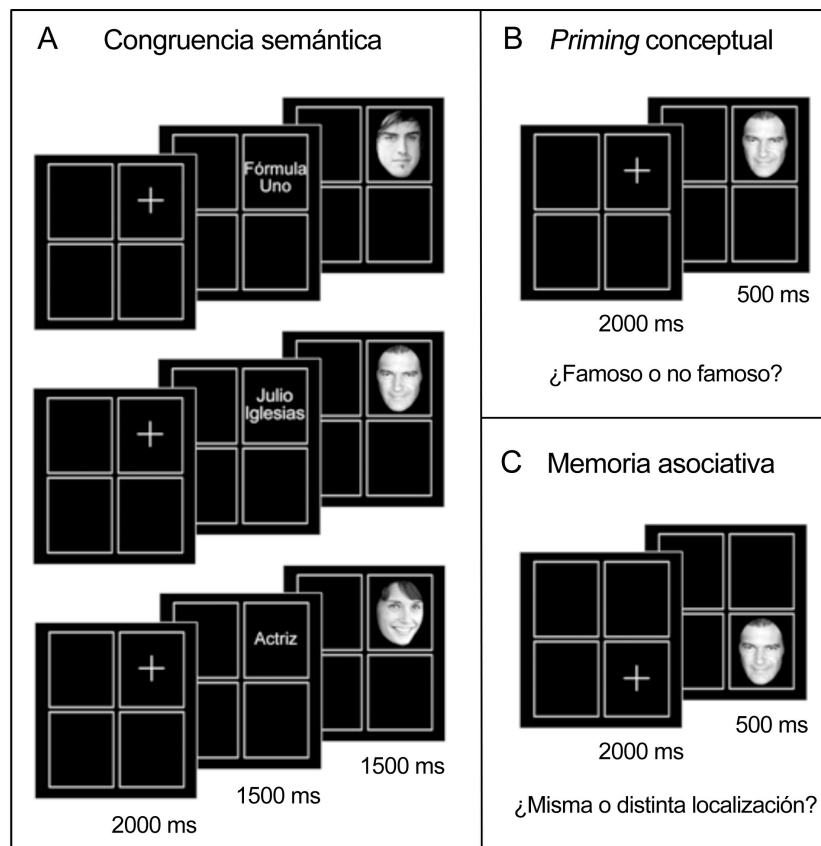


Figura 5. Representación esquemática de las tareas presentadas en la fase de estudio y en la fase de memoria. En la tarea de congruencia semántica que se ilustra en (A) se presentan tres ensayos, uno para condición experimental (personas famosas semánticamente congruentes, personas famosas semánticamente incongruentes, y personas no famosas). En las pruebas de memoria que se ilustran en (B-C) los ensayos corresponden a la condición de personas famosas semánticamente incongruentes.

Ante cada cara, los participantes debían responder si esta guardaba o no relación con la clave biográfica previa. Para ello se empleó una caja de respuestas con cinco botones dispuestos en forma de cruz (Cedrus®, modelo RB-530; Cedrus Corporation, San Pedro, CA), pero los sujetos solo debían presionar los botones localizados en los extremos del eje horizontal, los cuales estaban debidamente señalizados con una pegatina de color rojo en un caso y de color amarillo en el otro. Los participantes no fueron informados de que después de la fase de estudio realizarían dos pruebas de memoria, por lo que cualquier relación establecida entre la cara y la localización espacial fue totalmente incidental.

La fase de memoria comenzó con una tarea de *priming* conceptual. Las caras se presentaron en la misma localización espacial que en la fase de estudio, pero esta vez de forma aislada, sin claves biográficas que las precedieran (Figura 5B). Para cada una de las caras, los participantes debían decir si esta correspondía o no a una persona famosa, presionando los botones situados en los extremos del eje horizontal de la caja de respuestas de la forma más rápida posible y tratando de no equivocarse.

El *priming* es un tipo de memoria implícita mediante el cual la exposición a un estímulo facilita el procesamiento posterior de ese mismo estímulo, ya sea en la misma tarea o en una tarea diferente (Schacter & Buckner, 1998). En la fase de estudio se presentaron tres claves biográficas relacionadas con cada una de las caras famosas, con lo cual la cantidad de información conceptual reactivada debería ser similar para todas las caras. Sin embargo, la información semántica reactivada solo estaba asociada a la cara famosa en la condición de congruencia, por lo que el acceso a dicho conocimiento semántico debería estar facilitado únicamente para las caras codificadas en esta condición. Por el contrario, todas las caras fueron primadas desde un punto de vista perceptivo. Se esperaba por tanto que las respuestas para las caras famosas congruentes en la tarea de *priming* conceptual fueran más precisas y más rápidas que para las caras famosas incongruentes. El objetivo de esta prueba era estar seguros que cualquier diferencia que pudiéramos encontrar al comparar los dos grupos en la

prueba de memoria asociativa no se debiera a una incapacidad para acceder de forma automática a la información semántica relacionada con la cara.

En la prueba de memoria asociativa, la mitad de las caras correspondientes a cada condición de congruencia se presentaron en una localización espacial diferente a la que aparecieron en las pruebas anteriores (Figura 5C). Los participantes debían identificar de la manera más rápida posible tratando de no equivocarse, si la localización actual de la cara coincidía con la localización en la que se presentó durante la fase de estudio. Si el procesamiento de una relación semántica preexistente fuera ventajoso para la codificación de nuevas asociaciones episódicas, la recuperación de la localización espacial de las caras congruentes debería verse facilitado, tal como se ha demostrado en estudios previos tanto en personas jóvenes (Atienza *et al.*, 2011; Staresina *et al.*, 2009) como en personas mayores sanas (Crespo-García *et al.*, 2012).

Las dos primeras tareas son una versión modificada de la prueba usada por Voss y Paller (2006), mientras que la prueba de memoria episódica es una adaptación del paradigma “*Face Place Test*” propuesto por Dudas *et al.* (2005). La primera de estas tareas solo se ha evaluado en población joven, sin embargo la segunda se ha aplicado a personas mayores sanas, a personas con DCL y a pacientes con EA. La presentación de claves biográficas permitió a los autores del estudio determinar que los procesos responsables del *priming* conceptual y del reconocimiento de caras son diferentes. Por su parte, la tarea del “*Face Place Test*” puso de manifiesto que las personas con DCL muestran un déficit episódico comparable al de las personas con EA además de un deterioro de la memoria semántica. No obstante, como en este estudio únicamente se evaluó la capacidad para recuperar el nombre de las personas famosas, no está claro si el problema estaba en el acceso a la información semántica o en la producción del nombre. El presente estudio pretende dar un paso más al evaluar si el componente episódico del “*Face Place Test*” puede mejorar gracias al procesamiento semántico de las caras, concretamente cuando la información semántica proporcionada es coherente con la información pre-existente que el sujeto tiene acerca del personaje.

Cada tarea incluyó 6 bloques integrados por 48 ensayos cada uno. La primera prueba (congruencia semántica) duró aproximadamente 60 min y las dos pruebas de memoria (*priming* conceptual y memoria asociativa) se extendieron alrededor de 30 min cada una, con un intervalo de 15 min de descanso entre ellas. Después de cada bloque se repetían las instrucciones de la tarea correspondiente así como el botón que debían presionar en cada caso. Estas instrucciones eran especialmente necesarias para las personas mayores con DCLa. De hecho, en algún caso, nos vimos obligados a interrumpir un bloque de estímulos y volver a reiniciarlo porque el sujeto no recordaba qué botón debía presionar en cada situación.

4.4. Análisis comportamental

Para evaluar la ejecución de los participantes en las pruebas de memoria se consideraron los tiempos de reacción (TR) y una medida de la precisión del reconocimiento (d'), derivada de la teoría de detección de señales (O'Toole *et al.*, 2007; Snodgrass & Corwin, 1988).

Los TR fueron calculados para las respuestas correctas que incluyeron tanto los verdaderos positivos (aciertos) como los verdaderos negativos (rechazos correctos). La ganancia de memoria asociativa debido a la congruencia semántica se evaluó mediante un índice que denominaremos d' *semántica*. Para obtener este índice restamos la d' de ambas condiciones experimentales (d' *semántica* = d' en la condición de congruencia – d' en la condición de incongruencia). Asimismo, para cuantificar los efectos de la congruencia semántica sobre la rapidez de las respuestas, se calculó un índice equivalente con los TR (TR en condición de congruencia – TR en condición de incongruencia). Además, para obtener una medida de la memoria global para las asociaciones de caras famosas, se diseñó un nuevo índice, la d' *asociativa*, promediando los índices de precisión obtenidos en las condiciones de incongruencia semántica (caras famosas incongruentes y caras no famosas). El mismo protocolo se empleó para los TR.

4.5. Análisis estadístico de los índices de memoria

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL). Tanto en la tarea de *priming* conceptual como en la de memoria visoespacial se evaluó el efecto de la congruencia semántica y el efecto del diagnóstico (controles vs. DCLa) o del ApoE ($\epsilon 4^+$ vs. $\epsilon 4^-$) en individuos con DCLa mediante análisis de la varianza factoriales mixtos (ANOVAs) y análisis de la covarianza (ANCOVAs), incluyendo como covariables las diferentes variables demográficas (edad, género y años de escolarización) y las puntuaciones obtenidas en el MMSE. Dichas covariables se mantuvieron en el modelo estadístico general solo si su efecto alcanzaba la significación estadística ($p < 0,05$). La homogeneidad de varianzas se evaluó con el test de Levene y la de la matriz de varianza-covarianza con la prueba de Box. La W de Mauchly se utilizó para evaluar si el modelo estadístico cumplía la asunción de esfericidad. Estos análisis se realizaron para cada variable dependiente por separado. Por último, se utilizó la *t* de Student para evaluar los efectos de interacción.

4.6. Determinación de los polimorfismos genéticos del gen ApoE

Cada participante acudió en ayunas a la Unidad de Biomarcadores del Laboratorio de Neurociencia Funcional (Universidad Pablo de Olavide) para proceder a la toma de muestras de sangre en las semanas previas al experimento. A partir de estas muestras, se extrajo el ADN mediante el procedimiento de "salting-out" (Miller *et al.*, 1988). La concentración y pureza de cada muestra de ADN se obtuvo mediante espectrofotometría (NanoDrop 2000[®], Thermo Fisher Scientific), y su integridad se determinó mediante electroforesis (Mupid-One[®]) con geles de agarosa. El ADN resultante se almacenó en viales de 1,5 ml y se congeló a -80°C .

Los polimorfismos del gen ApoE se obtuvieron mediante PCR (Step-One Plus) con sondas TaqMan[®] (Applied Biosystem) específicas para cada SNP (*Single Nucleotide Polimorphism*) de interés (rs429358: TaqMan C_3084793_20; rs7412: TaqMan C_904973_10). Las reacciones se amplificaron por duplicado siguiendo las instrucciones de cada ensayo TaqMan.

4.7. Adquisición de las imágenes de resonancia magnética cerebral (RM)

Se adquirieron dos imágenes de RM de cerebro con alta resolución (secuencia T1-3D) en un scanner Philips Intera 1,5T de cuerpo entero (Philips, Holanda) a partir del siguiente protocolo: tiempo de repetición = 8,5 ms, tiempo de eco = 4 ms, ángulo de rotación = 8°, dimensiones de la matriz de adquisición = 256 x 192, y 184 cortes sagitales de 1,2 mm de espesor sin espacio entre los cortes, y tiempo de adquisición = 5,4 min. Todos estos parámetros fueron previamente optimizados hasta obtener un buen contraste de sustancia gris y blanca en el escáner de RM en el que se iba a realizar el estudio. Las dos imágenes cerebrales de cada sujeto fueron corregidas para eliminar artefactos de movimiento y promediadas con la finalidad de incrementar la razón señal/ruido.

4.8. Procesamiento de las imágenes

La primera fase del procesamiento de las imágenes de RM consistió en eliminar el cráneo y tejido extracerebral sobrante del volumen cerebral previamente promediado. Esta labor se realizó, en primera instancia, mediante la aplicación de un algoritmo híbrido implementado en el programa Freesurfer v.4.05 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Los errores introducidos por Freesurfer en este proceso de segmentación automática se corrigieron manualmente corte a corte en los 3 planos del cerebro. Este procedimiento ha mostrado mejorar sensiblemente la fiabilidad de los resultados obtenidos con técnicas de análisis de morfometría basada en el vóxel (Acosta-Cabronero *et al.*, 2008). Los procesos de normalización de las imágenes y posterior aplicación de la técnica de morfometría basada en tensores se realizaron con el programa Statistical Parametric Mapping (SPM5, Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk>) siguiendo un protocolo estandarizado.

Primeramente, se localizó en el plano inter-hemisférico el origen estereotáxico de cada imagen en la comisura anterior. A continuación, se alinearon todas las imágenes al espacio anatómico estandarizado del sujeto único (Collin27) del Instituto Neurológico de Montreal (MNI) mediante

una transformación afín de 12 parámetros sin transformaciones no-lineales (Collins *et al.*, 1994). Luego, se realizó una segmentación automática de los diferentes compartimentos del cerebro (líquido ceforraquídeo, sustancia gris y sustancia blanca) siguiendo un procedimiento unificado de segmentación que emplea mapas probabilísticos de los distintos compartimentos cerebrales para establecer los límites entre ellos (Ashburner & Friston, 2005). Finalmente, se obtuvieron imágenes de cada compartimento cerebral remuestreadas al espacio del atlas del MNI con un tamaño de vóxel isotrópico de 1mm^3 .

Con el fin de reducir las variaciones anatómicas entre sujetos sin deformar excesivamente cada cerebro individual, las imágenes resultantes fueron registradas a un sujeto promedio obtenido a partir de las mismas imágenes mediante un algoritmo denominado DARTEL (siglas en inglés, *Diffeomorphic Anatomical Registration using Exponentiated Lie Algebra*; Ashburner, 2007). El registro con DARTEL crea, a partir de los compartimentos segmentados en el espacio MNI, campos de deformación de cada imagen individual (*flowfields*), los cuales contienen la información de la transformación aplicada. Estos campos se obtienen a partir de la generación de un sujeto promedio, calculado con todos los sujetos de la muestra, y de las interacciones de este sujeto promedio con la imagen de cada sujeto. De esta forma, el resultado de la deformación se considera óptimo porque preserva al máximo la morfología cerebral de cada individuo, en términos de sustancia gris y blanca conjuntamente. DARTEL está considerado como uno de los cuatro mejores métodos de corrección de imágenes de acuerdo con el mayor estudio realizado hasta la fecha de evaluación de algoritmos de deformación no lineal aplicados a imágenes cerebrales (Klein *et al.*, 2009; ver también Martino *et al.*, 2013).

El siguiente paso fue generar matrices de determinantes jacobianos (medida volumétrica) para cada campo de deformación. Los determinantes jacobianos son integrales triples -3 dimensiones— que sirven para trazar campos vectoriales y determinar el grado de contracción y dilatación de un cuerpo geométrico. De esta forma, es posible calcular para cada vóxel la diferencia de volumen entre la imagen fuente (sujeto) y la imagen diana (sujeto promedio) (Leow *et al.*, 2007). Posteriormente las matrices jacobianas se convirtieron a logaritmo con

fines estadísticos. De esta forma, si el valor del logaritmo es positivo, el volumen de la imagen es mayor que el volumen del sujeto promedio; y si es negativo, el volumen de la imagen es menor que el volumen promedio. A este procedimiento, el cual emplea la matriz logarítmica de los determinantes jacobianos para determinar las variaciones entre sujetos en la morfometría cerebral, se le denomina *morfometría basada en tensores* (Ashburner *et al.*, 2000). Estas imágenes serán las que se utilicen para fines estadísticos en el presente estudio. Un ejemplo de estas imágenes se muestra en la Figura 6.

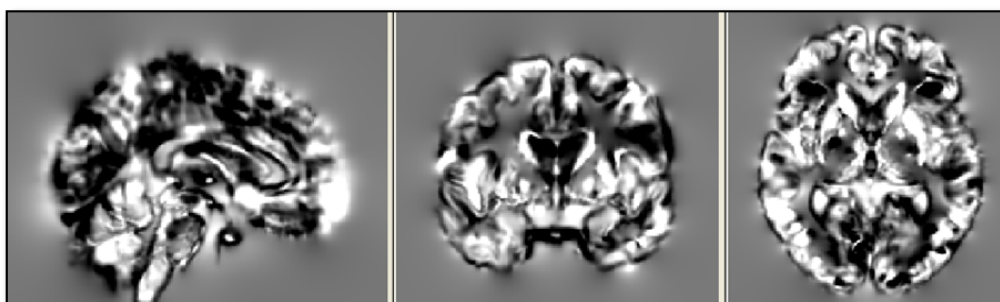


Figura 6. Mapa logarítmico de los determinantes jacobianos.

Las máscaras probabilísticas de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo se crearon a partir de los mapas citoarquitectónicos de diez cerebros humanos *post mortem* sin historial de enfermedades neurológicas o psiquiátricas (Amunts *et al.*, 2005). Los autores de dichas máscaras utilizaron secciones coronales seriales con 20 μm de espesor y un marcador de plata para el marcaje celular que sirvió para establecer la delimitación citoarquitectónica. La posición y la extensión de las estructuras del hipocampo fueron determinadas a partir de secciones histológicas sagitales, reconstruidas en 3 dimensiones y ajustadas al espacio MNI del sujeto Colin27. Los mapas probabilísticos de la corteza entorrinal así como de cada región de la formación del hipocampo –subíulum (prosubíulum, subíulum propiamente dicho, presubíulum y parasubíulum), Cornu Ammonis (CA1-CA3), y giro dentado (faja dentada y CA4)– indican la frecuencia relativa con la que cada estructura citoarquitectónica está presente en cada vóxel del espacio anatómico MNI. Además, se utilizó un mapa estereotáxico del lóbulo temporal medial para verificar los mapas probabilísticos de cada máscara con un umbral del

40%. En consecuencia, solamente los vóxeles que obtuvieron un solapamiento mínimo en 4 de los 10 cerebros fueron seleccionados para extraer las máscaras de cada estructura en las que se realizaron los análisis del presente estudio (Amunts *et al.*, 2005). Las máscaras probabilísticas empleadas en este trabajo están implementadas en la “Anatomy Toolbox” de SPM5 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm).

Para evitar solapamiento entre las diferentes regiones del hipocampo, se obtuvo un mapa síntesis de la corteza entorrinal, del hipocampo propiamente dicho, del subículum y del giro dentado, que contenía la mayor área citoarquitectónica posible. Esta área citoarquitectónica estaba compuesta por el mayor número de concordancia de vóxeles entre los 10 cerebros *post mortem*. En otras palabras, estos mapas citoarquitectónicos se construyeron a partir de la suma de vóxeles de cada región de interés que presentó un mayor número de vóxeles compartidos para cada estructura entre los sujetos en cada vóxel. Este procedimiento se conoce como “Mapa de Máxima Probabilidad” (Eickhoff *et al.*, 2005, 2006) y también está implementado en la “Anatomy Toolbox”. La ventaja de este procedimiento es que nos permite obtener máscaras binarizadas de regiones cerebrales adyacentes evitando el solapamiento.

Para una mejor adaptación de las máscaras probabilísticas de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo a la anatomía propia de nuestra muestra de sujetos, se crearon campos de deformación entre el sujeto promedio resultante de nuestra propia muestra y el sujeto único del MNI Collin27, que es el espacio anatómico donde se construyeron estas máscaras (Eickhoff *et al.*, 2005). Para ello, las imágenes individuales en el espacio MNI sin segmentar fueron normalizadas empleando los campos de deformación obtenidos a partir de DARTEL. Las imágenes normalizadas obtenidas se promediaron, dando lugar a una única imagen con la representación de la anatomía promedio de todos los sujetos, a esta imagen se le denominó *imagen anatómica promedio*. Ambas imágenes (Collin27 y nuestra imagen anatómica promedio) fueron segmentadas y de nuevo registradas anatómicamente con DARTEL, generándose así los campos de deformación entre ambas imágenes. Estos campos de deformación resultantes serán los que se utilicen posteriormente para deformar las

máscaras probabilísticas y ajustarlas a la anatomía de nuestra población. Este procedimiento permite que cada máscara esté en el mismo espacio anatómico de las imágenes transformadas, con el mismo origen y con las mismas dimensiones. Dado que la deformación proporciona cambios en los vóxeles y en los bordes de las imágenes, las máscaras fueron nuevamente binarizadas. En la Figura 7 se incluye una representación esquemática del procedimiento analítico que se ha descrito en este apartado.

4.9. Análisis estadísticos de la integridad anatómica y de su relación con la integridad cognitiva

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPM5 que ofrece una implementación del modelo lineal general que utiliza la “Gaussian Random Field Theory”². En primer lugar, evaluamos las diferencias entre grupos (controles vs. DCLa) mediante un ANCOVA en el que se introdujeron como covariables la edad y el volumen total de las máscaras probabilísticas de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo. Utilizando estos resultados como máscara, se realizó un análisis de regresión para cada índice de memoria (d' asociativa y d' semántica). El diagnóstico (controles vs. DCLa), la edad, el volumen total de las máscaras probabilísticas y el correspondiente índice de memoria fueron incluidos como regresores en el modelo estadístico. Las regresiones múltiples entre vóxeles fueron corregidas aplicando FDR (*false discovery rate*; $q=0,05$). El mismo conjunto de análisis se realizó en el subgrupo de individuos con DCLa para evaluar la influencia del genotipo ApoE4. En este caso, la regresión incluyó un total de 15 sujetos con $\epsilon 4$ y 17 sujetos sin dicho alelo. Como no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el volumen de la corteza entorrinal ni en el de la formación del hipocampo al comparar sujetos DCLa portadores y no portadores del alelo $\epsilon 4$, los análisis de regresión se realizaron sobre toda la máscara probabilística.

² Esta aproximación matemática trata de resolver los problemas de múltiples comparaciones que supone el análisis estadístico de imágenes cerebrales en donde los diferentes estadísticos se calculan para una gran cantidad de vóxeles, aumentando así la probabilidad de identificar falsos positivos.

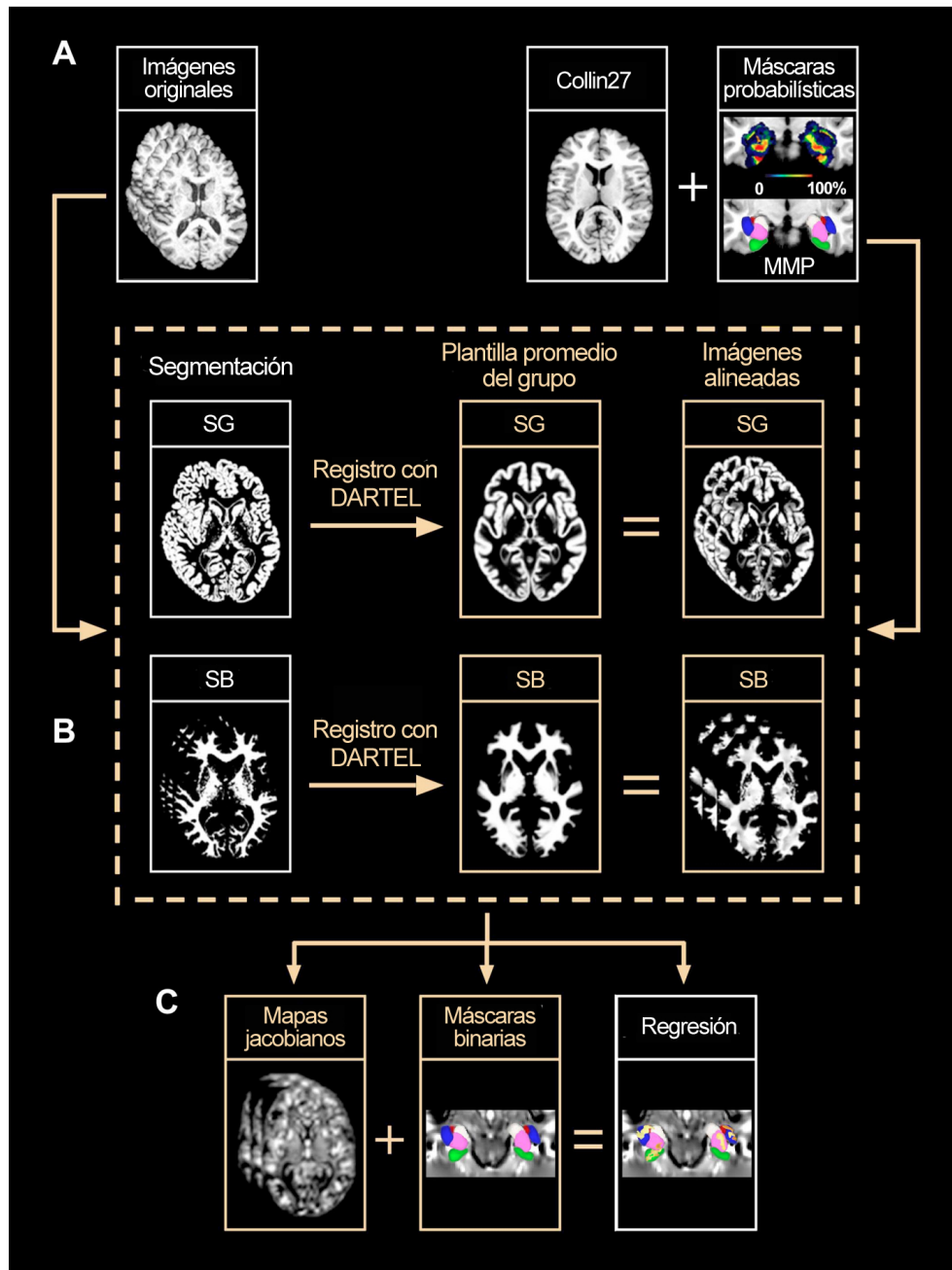


Figura 7. Diagrama de flujo que ilustra la técnica de la morfometría basada en tensores y el registro de imágenes mediante DARTEL. **(A)** Este procedimiento se aplicó no solo a las imágenes individuales de cada sujeto (izquierda) sino también a los mapas de máxima probabilidad (derecha) de la corteza entorrinal (verde) y de las diferentes estructuras de la formación del hipocampo (subículum en rosa, CA en azul, y giro dentado en rojo) una vez registradas al espacio MNI (Collin27). **(B)** Las cajas en amarillo hacen referencia a la morfometría basada en tensores y al procedimiento DARTEL. Tras normalizar cada imagen al espacio MNI, estas fueron segmentadas para separar la sustancia gris (SG) de la blanca (SB). A continuación, los mapas de SG y SB se registraron al mapa promedio del grupo mediante DARTEL. **(C)** Los mapas de logaritmos jacobianos obtenidos a partir de DARTEL fueron utilizados para realizar los análisis estadísticos correspondientes junto con las máscaras binarias de los mapas de máxima probabilidad (MMP).

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Características demográficas de la muestra

En relación a las características demográficas de la muestra, el 52% de los sujetos experimentales eran hombres, con un promedio de escolarización de 9 años (desviación típica, DT=2,9) para los controles y de 8,9 (DT=3,2) para los DCLa. Sus edades estuvieron comprendidas entre los 59 y los 83 años ($66,6 \pm 5,1$ para los controles y $69,1 \pm 6,1$ para los DCLa). La influencia del ApoE4 (ϵ_4) fue estudiada únicamente en los pacientes con DCLa, ya que solo dos sujetos del grupo control presentaron el alelo ϵ_4 . En el grupo de DCLa, solo un sujeto fue homocigoto para el alelo ϵ_4 , 15 heterocigotos ($\epsilon_3/\epsilon_4 = 13$; $\epsilon_2/\epsilon_4 = 2$) y los restantes no presentaron este alelo ($\epsilon_3/\epsilon_3 = 14$; $\epsilon_2/\epsilon_3 = 2$). Los datos demográficos y el perfil neuropsicológico de cada grupo aparecen detallados en la Tabla 1, así como las diferencias estadísticas encontradas. Tal como cabría esperar, el grupo con DCLa mostró puntuaciones más pequeñas que el grupo control en el test MMSE ($p < 0,003$), y en las pruebas de memoria inmediata ($p < 10^{-8}$) y demorada ($p < 10^{-10}$).

Tabla 1. Perfil demográfico y neuropsicológico de la muestra.

	Controles (N=29)	DCLa (N=32)	p <
Edad	66,6 ± 5,1	69,1 ± 6,1	0,09
Género (H / M)	16 / 13	14 / 18	0,4
Escolarización (años)	9,0 ± 2,9	8,9 ± 3,2	0,9
MMSE	28,4 ± 1,3	26,9 ± 2,5	0,003*
CDR	0	0,5	NA
Memoria inmediata	14,2 ± 3,0	9,5 ± 2,3	10⁻⁸*
Memoria diferida	13,2 ± 2,7	6,6 ± 3,4	10⁻¹⁰*
APOE (% presencia ϵ_4)	13,8	48,6	NA

H = Hombres; M = Mujeres; MMSE = Mini Examen Cognoscitivo (Lobo *et al.*, 1979). CDR = Escala de Demencia Clínica (Hughes *et al.*, 1982); NA = no se aplica

5.2. Resultados conductuales

De acuerdo con nuestra hipótesis inicial, la memoria de reconocimiento en la tarea visoespacial se vio seriamente afectada en las personas con DCLa una vez eliminados los efectos de la edad ($F_{(1,58)} = 8,4$; $p < 0,005$). El índice de d' asociativa se vio reducido prácticamente a la mitad en el grupo con DCLa (media \pm error estándar de la media; controles = $0,93 \pm 0,09$; DCLa = $0,49 \pm 0,09$).

Al igual que la d' asociativa, el índice de d' semántica también disminuyó con la edad, pero a diferencia del primero dicha relación solo fue evidente en el grupo control ($Beta = -0,42$; $t = 2,4$; $p < 0,03$). En el caso del grupo con DCLa, este índice se vio significativamente afectado por la presencia del alelo $\epsilon 4$ ($Beta = -0,36$; $t = -2,2$; $p < 0,04$). Una vez demostrado que no había diferencias significativas al comparar las pendientes de regresión para cada una de estas variables entre los dos grupos, ambas fueron incluidas como covariables en el modelo lineal general. Los resultados del ANCOVA pusieron de manifiesto el efecto beneficioso de la congruencia semántica sobre la codificación de las asociaciones episódicas. Tal como se ilustra en la Figura 8, hallamos que la memoria asociativa varió en función de la congruencia del contexto ($F_{(2,114)} = 3,8$; $p < 0,04$; $\epsilon = 0,8$), siendo esta mayor para las caras congruentes, luego para las incongruentes, y finalmente para las caras de personas no famosas. Sin embargo, el efecto de la congruencia no fue igual en los dos grupos tal como se deriva del efecto de interacción ($F_{(2,114)} = 4,1$; $p < 0,03$; $\epsilon = 0,8$). En concreto, los análisis post hoc pusieron de manifiesto que los sujetos del grupo control se beneficiaban de la congruencia semántica mucho más que los sujetos del grupo con DCLa. De hecho, y tal como se indica en la Figura 8, solo la memoria de reconocimiento para las caras semánticamente congruentes permitió diferenciar estos dos grupos de sujetos ($p < 0,02$).

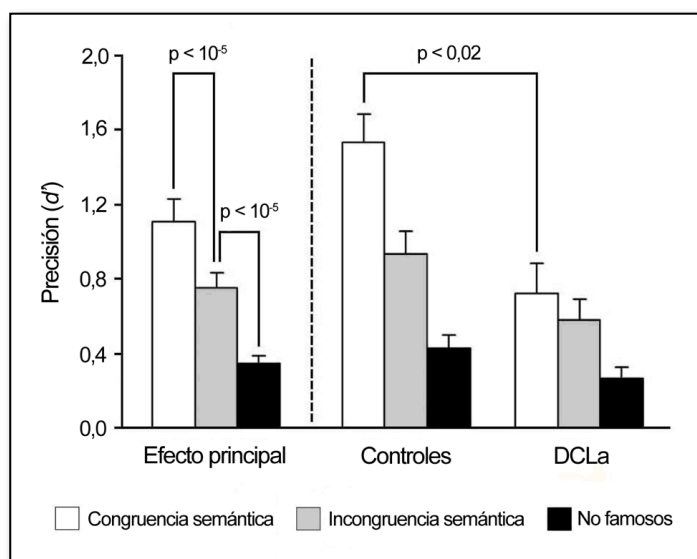


Figura 8. Índice de precisión (d') en la tarea de memoria asociativa. A la izquierda del panel se muestra el efecto principal de la congruencia y a la derecha el efecto de interacción.

A continuación, se estimó el efecto del genotipo ApoE4 sobre el rendimiento en la tarea de memoria asociativa. Este análisis se limitó al grupo con DCLa ($N = 32$). El ANCOVA con la edad como covariable mostró un efecto significativo de la congruencia ($F_{(2,64)} = 3,3$; $p < 0,05$), pero los análisis post hoc revelaron que las diferencias se debieron a que la memoria asociativa fue peor para las caras de las personas no famosas que de las famosas ($p < 0,02$). Aunque el efecto de interacción no fue significativo, las personas mayores con DCLa no portadoras del alelo $\epsilon 4$ sí que mostraron una mejor memoria asociativa para las caras famosas codificadas en condiciones de congruencia ($0,94 \pm 0,19$) que de incongruencia ($0,61 \pm 0,15$; $p < 0,003$). Por el contrario, las portadoras del alelo $\epsilon 4$ mostraron un recuerdo similar independientemente del contexto semántico en el que se produjo la codificación (congruencia: $0,42 \pm 0,19$; incongruencia: $0,47 \pm 0,15$). El índice de precisión global (d' asociativa) también fue mayor en las no portadoras ($0,65 \pm 0,13$) que en las portadoras ($0,33 \pm 0,11$), pero las diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p < 0,07$), probablemente porque el tamaño de la muestra no fue lo suficientemente grande.

Como se muestra en la Figura 9, tanto los controles como los sujetos con DCLa respondieron más rápido cuando debían recuperar la localización de caras codificadas bajo un contexto congruente en comparación con un contexto incongruente ($F_{(2,118)} = 13,7$; $p < 10^{-4}$; $\epsilon = 0,7$). No obstante, este resultado fue evidente cuando las caras se presentaban en la misma localización ($F_{(2,118)} = 28,3$; $p < 10^{-8}$; $\epsilon = 0,8$) pero no cuando se presentaban en una localización diferente. Las puntuaciones obtenidas en el MMSE correlacionaron con los TR, de tal manera que su inclusión en el modelo lineal general eliminó las diferencias significativas anteriormente informadas. Se concluye por tanto que la rapidez en la recuperación de la memoria asociativa no se vio afectada ni por la congruencia semántica ni por la condición diagnóstica de DCLa.

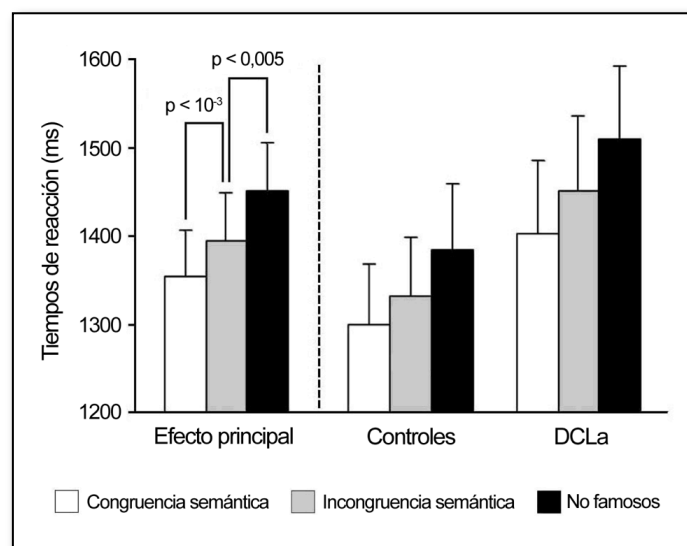


Figura 9. Tiempos de reacción en la tarea de memoria asociativa.

Cabe la posibilidad de que las diferencias en los efectos de la congruencia semántica sobre la memoria asociativa de reconocimiento en controles y en DCLa se debieran, al menos parcialmente, a un déficit en el acceso automático a la información semántica durante la fase de recuperación. Para evaluar esta hipótesis, exploramos los resultados obtenidos durante la tarea de *priming* conceptual. En principio, podría parecer que la hipótesis planteada es poco plausible porque ambos grupos presentaron más aciertos (un 35% más

de respuestas correctas) y respuestas más rápidas (una ganancia media de 40 ms) ante las caras famosas congruentes que ante las incongruentes. Sin embargo, en el caso del índice de precisión, el efecto de interacción arrojado por el ANCOVA con las puntuaciones MMSE como covariable ($F_{(1,58)} = 5,7; p < 0,02$) no nos permite descartar esta hipótesis. Aunque los dos grupos mostraron un efecto significativo de la congruencia semántica sobre la precisión, dicho efecto fue de mayor magnitud en el grupo control. Este resultado nos lleva a pensar que quizás las personas mayores con DCLa tuvieran más dificultades a la hora de codificar las caras famosas durante la fase de estudio que sus homólogos controles. Pero los resultados obtenidos durante la fase de estudio no son congruentes con dicha hipótesis. De hecho, la ejecución en la tarea de congruencia biográfica no se vio afectada ni por el contexto semántico ni por el diagnóstico. No obstante, para descartar que las diferencias de grupo encontradas en la tarea de memoria asociativa pudieran estar motivadas por fallos en la codificación, repetimos el ANCOVA incluyendo para cada sujeto solo las caras que fueron codificadas correctamente en la fase de estudio (tarea de congruencia semántica). Este análisis arrojó un efecto de interacción significativo ($F_{(1,58)} = 5,2, p < 0,03$) y de nuevo las diferencias de grupo estuvieron asociadas a las caras codificadas en un contexto semánticamente congruente ($p < 0,004$).

5.3. Resultados neuroanatómicos

5.3.1. Efecto del diagnóstico sobre la integridad anatómica

El ANCOVA con la edad como covariable reveló una reducción significativa del volumen total de la formación del hipocampo en las personas con DCLa en comparación con los controles ($F_{(1,58)} = 9,9; p < 0,003$), mientras que en el caso de la corteza entorrinal no hubo diferencias significativas entre los dos grupos. La Tabla 2 incluye los valores medios de volumen global para la corteza entorrinal y para cada región de la formación del hipocampo en controles y en personas mayores con DCLa.

Tabla 2. Volumen medio de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo (mm³).

Grupo	Media	DT	Valor mínimo	Valor máximo
Controles (N = 32)				
Total	4372,43	44,92	3953,6	4743,9
CE	973,51	18,16	721,5	1151,5
SUB	947,43	10,33	844,6	1058,2
CA	733,88	9,34	630,9	819,8
GD	1717,6	16,66	1519,9	1876,6
DCLa (N = 29)				
Total	4016,84	72,64	3107,0	4649,2
CE	891,27	22,72	634,8	1101,1
SUB	867,9	15,96	665,3	1031,2
CA	663,7	13,37	495,4	795,9
GD	1593,96	25,33	1288,3	1851,7

DT=desviación típica; CA=cornu ammonis; CE=corteza entorrinal; GD=giro dentado; SUB=subículum

Por el contrario, cuando se aplicó la morfometría basada en tensores, las diferencias entre grupos fueron evidentes en todas las estructuras de la máscara probabilística, tal como se ilustra en la Figura 10. Los sujetos con DCLa mostraron una reducción de volumen significativa que abarcó un 36% del subículum, un 40% del CA, y un 70% del giro dentado. Asimismo, el volumen de la corteza entorrinal, entrada principal de información al hipocampo, se vio igualmente reducida, aunque la atrofia fue más evidente en el hemisferio derecho (35%) que en el izquierdo (12%). La Tabla 3 incluye los resultados de este contraste, pero como el análisis de clusters solo arrojó un cluster significativo, solo se ha incluido la región donde se localizó el vóxel que mostró el estadístico máximo. Estas diferencias no fueron significativas cuando se compararon sujetos con DCLa portadores y no portadores del alelo $\epsilon 4$.

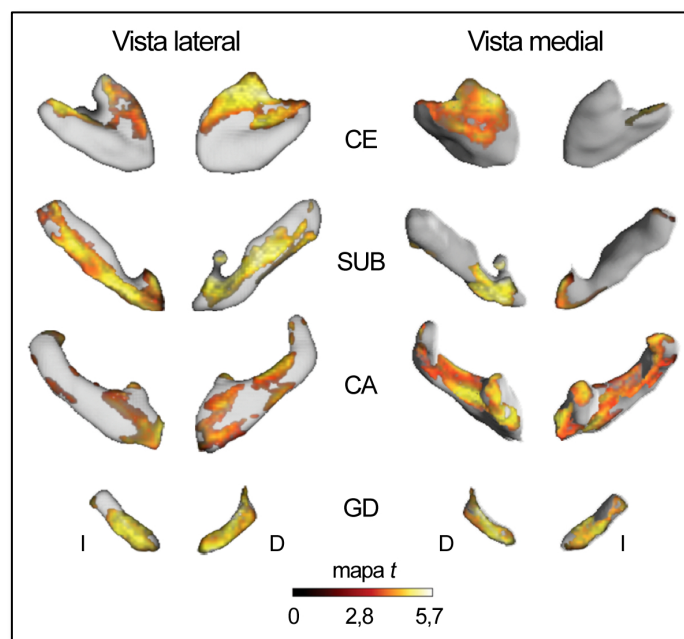


Figura 10. Mapas estadísticos paramétricos de las reducciones de volumen en sujetos con DCLa. Las diferencias significativas de volumen se muestran sobre las vistas laterales y mediales de la reconstrucción tridimensional de la corteza entorrinal (CE) y de las diferentes estructuras de la formación del hipocampo que incluyen el subículo (SUB), Cornu Ammonis (CA) y el giro dentado (GD). D = derecha; I = izquierda.

5.3.2. Relación entre la integridad anatómica y la memoria asociativa

Una vez localizados los cambios de volumen (Figura 10), se realizaron análisis de regresión para determinar si dichos cambios guardaban alguna relación con el deterioro observado en la memoria asociativa. Con este objetivo, y utilizando como máscara los resultados derivados de las diferencias volumétricas entre grupos, evaluamos si había diferencias en las pendientes de regresión al comparar los dos grupos. La Tabla 3 muestra los resultados de los diferentes contrastes y el valor de T umbral a partir del cual los clústers fueron considerados significativos. La tabla incluye las regiones donde se localizaron los clusters significativos, el tamaño del clúster, las coordenadas MNI del vóxel que mostró el estadístico máximo y el valor de p corregido por múltiples comparaciones con FDR.

Tabla 3. Diferencias entre grupos en el volumen de estructuras de la formación del hipocampo y de la corteza entorrinal, y en su relación con la memoria asociativa.

	Hemisferio	TC	Coordenadas			<i>r</i>	<i>Z</i>	<i>p</i> _{FDR}
			<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>			
t-test								
Controles > DCLa _{T > 2,15}								
CA	I	5122	-19	-11	-16	5,74	5,10	0,002
CA	D	6434	24	-11	-21	5,51	4,93	0,002
Regresión con <i>d'</i> asociativa								
Controles > DCLa _{T > 2,69}								
CA	I	398	-31	-17	-22	0,52	4,23	0,015
CA	D	501	33	-16	-22	0,51	4,20	0,015
CE	D	165	23	3	-29	0,45	3,64	0,019
Regresión con <i>d'</i> semántica tras eliminar los efectos de la <i>d'</i> asociativa								
Controles > DCLa _{T > 2,62}								
CA	D	836	35	-28	-9	0,50	4,07	0,014
CA	I	344	-27	-18	-18	0,44	3,51	0,015

Las coordenadas pertenecen al espacio MNI y representan el vóxel máximo dentro de un cluster. TC = tamaño del cluster; *p*_{FDR} = valor de *p* corregido por "false discovery rate"; CE = corteza entorrinal; CA = cornu ammonis; D = derecho; I = izquierdo.

Los dos grupos mostraron relaciones significativamente diferentes entre el índice de *d'* asociativa y los cambios de volumen tanto de la corteza entorrinal como de la formación del hipocampo. Concretamente, un 6% del CA bilateralmente y un 3% de la corteza entorrinal del hemisferio derecho se vio afectada por este resultado. El diagnóstico afectó igualmente la relación entre los cambios anatómicos y el índice de *d'* semántica, una vez eliminados los efectos de la *d'* asociativa. Sin embargo, este resultado solo fue evidente en CA, afectando a un área más extensa del hemisferio derecho (11,3%) que del izquierdo (5,8%). La Figura 11 ilustra la localización de los resultados de estos análisis (panel A) y las diferencias en las pendientes de regresión entre los dos grupos para el vóxel que mostró el estadístico máximo (panel B).

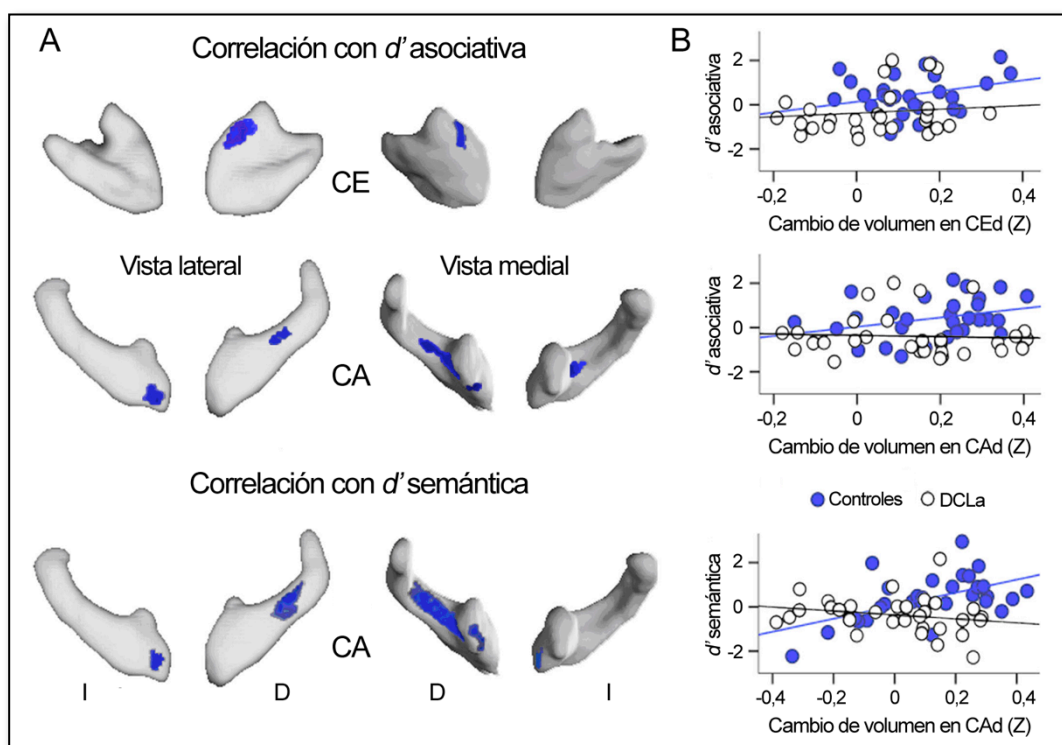


Figura 11. Efecto del diagnóstico sobre las relaciones entre la memoria episódica y el volumen de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo. **(A)** Mapa estadístico paramétrico que ilustra la localización de las diferencias de grupo en las pendientes de regresión con el índice d' asociativa y con el índice d' semántica. **(B)** Pendientes de regresión para cada grupo en el vóxel que mostró el máximo estadístico en cada región. CE = corteza entorrinal; CA = Cornu Ammonis; D = derecho; I = izquierdo.

Los mapas citoarquitectónicos probabilísticos utilizados en este estudio no nos permitieron identificar las capas concretas del CA que correlacionaron con el deterioro cognitivo. Sin embargo, los resultados que se muestran en la Figura 12, sugieren que las diferencias de grupo en lo que a las pendientes de regresión se refiere se localizaron principalmente en la capa CA1 del hemisferio izquierdo y en la transición CA1-CA2 en el hemisferio derecho, aunque no es posible descartar que los efectos también se extendieran a la capa CA3.

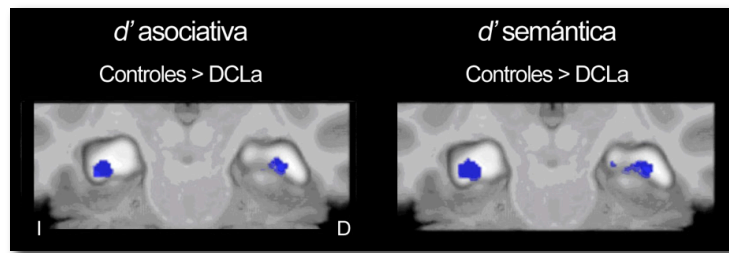


Figura 12. Resultados obtenidos tras comparar las pendientes de regresión entre grupos. Los resultados derivados de los índices de d' asociativa y d' semántica se han superpuesto sobre una sección coronal del mapa probabilístico del Cornu Ammonis (CA). D = derecho; I = izquierdo.

5.3.3. Relación entre la integridad anatómica y el priming conceptual

Las correlaciones entre el rendimiento en la tarea de *priming* conceptual y el volumen de la corteza entorrinal y de las estructuras que conforman la formación del hipocampo no permitieron distinguir a los controles de los DCLa. No obstante, es importante resaltar que estos efectos alcanzaron la significación solo cuando los valores de p no fueron corregidos por múltiples comparaciones (tanto a nivel de vóxel como a nivel de clúster). En primer lugar, encontramos que el *priming* conceptual asociado a las caras famosas congruentes correlacionó positivamente con una expansión del volumen de la corteza entorrinal derecha cuando el análisis se realizó en toda la muestra. Sin embargo, cuando el mismo análisis se aplicó a cada grupo por separado, la correlación solo fue evidente en el grupo con DCLa, independientemente de la congruencia del contexto semántico. Lo más interesante es que dicha correlación fue negativa, es decir, cuanto mayor fue el efecto de *priming* menor fue el cambio de volumen que afectó a la formación del hipocampo y a la corteza entorrinal. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Relación entre el rendimiento en la tarea de *priming* conceptual y los cambios de volumen de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo.

	Hemisferio	TC	p_{cs}	Coordenadas			r	Z	p_{vox}
				x	y	z			
Regresión con caras semánticamente congruentes									
Controles > DCLa $T > 1,67$									
CA	D	837	0,01	34	-17	-16	0,46	3,76	10^{-4}
Toda la muestra $T > 1,7$									
CE	D	466	0,01	21	1	-34	0,40	3,18	0,001
DCLa $T > 1,67$									
CE	D	562	0,01	21	1	-34	0,46	3,72	0,001
CA	D	704	0,01	31	-19	-14	-0,42	3,35	0,001
Regresión con caras semánticamente incongruentes									
Controles > DCLa $T > 1,67$									
CA	D	278	0,03	34	-17	-16	0,40	3,18	0,001
DCLa $T > 1,67$									
CE	D	586	0,01	22	1	-34	0,46	3,68	0,001

Las coordenadas pertenecen al espacio MNI y representan el vóxel máximo dentro de un cluster. TC = tamaño del cluster; p_{cs} = valor de p para clusters no corregidos; p_{vox} = valor de p para vóxeles no corregidos; CA = cornu ammonis; CE = corteza entorrinal; D = derecho.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

Las personas mayores con DCL muestran una cierta incapacidad para codificar y recuperar aspectos contextuales de la memoria (Collie & Maruff, 2000), aunque esta incapacidad parece afectar en mayor medida a los procesos de codificación que a los de recuperación (Traykov *et al.*, 2007). Las dificultades aumentan cuando se trata de establecer relaciones entre ítems o entre un ítem y su contexto (Troyer *et al.*, 2008). Estos déficits son coherentes con el hecho de que las atrofas asociadas a la patofisiología de la EA en los años que preceden al diagnóstico se localizan sobre todo en regiones del LTM, por lo que es muy probable que los circuitos neurales que participan en la formación de nuevas asociaciones se vean seriamente afectados (Haroutunian *et al.*, 2009; Squire *et al.*, 2004). Los hallazgos del presente trabajo de Tesis avalan esta hipótesis.

Por una parte, nuestros resultados revelan que tanto la corteza entorrinal como la formación del hipocampo sufren cambios de volumen en personas mayores con DCLa que correlacionan con el deterioro de la memoria asociativa. Y por otra, los resultados muestran que aún cuando las personas con DCLa puedan beneficiarse de la codificación semántica del contexto para formar nuevas asociaciones episódicas, dicha codificación no siempre es suficiente para eliminar el déficit de memoria asociativa que los diferencia de los mayores sanos. Esta dificultad para beneficiarse del conocimiento semántico se relaciona igualmente con cambios de volumen en el hipocampo. El presente estudio transversal, pone de manifiesto, por primera vez con técnicas de neuroimagen *in vivo*, que el deterioro de la memoria asociativa que acompaña al DCLa está ligado a una pérdida de integridad anatómica que no solo afecta a la formación del hipocampo sino también a la corteza entorrinal. La importancia de este resultado reside en que es en estas regiones donde primero se localizan los subproductos de la taupatía que cursa con la EA (Braak & Braak, 1991, 1995).

6.1. La congruencia semántica facilita la formación de nuevas asociaciones en el envejecimiento normal

El envejecimiento cerebral se acompaña a menudo de un deterioro episódico especialmente marcado en el caso de la memoria asociativa (e.g., Old & Naveh-Benjamin, 2008). El presente estudio ha demostrado que esta dificultad disminuye cuando las asociaciones se codifican en un contexto semánticamente congruente. Sin embargo, sabemos que el beneficio asociado al procesamiento semántico no elimina por completo el deterioro de la memoria asociativa que presentan las personas mayores sanas cuando se les compara con adultos jóvenes (Crespo-García *et al.*, 2012). Cabe preguntarse, no obstante, cómo y a qué nivel de procesamiento se produce tal beneficio semántico.

La congruencia semántica puede actuar facilitando el procesamiento sensorial de la cara y/o de la localización espacial, aumentando así la eficiencia de los recursos atencionales. Estudios realizados en diferentes modalidades sensoriales han mostrado que la presencia de claves semánticamente congruentes mejora la codificación y posterior discriminación, mientras que la presencia de claves incongruentes ejerce el efecto contrario (Laurienti *et al.*, 2004). En nuestro estudio, la congruencia semántica del contexto podría haber facilitado asimismo la reactivación de representaciones neurales (mnésicas y/o perceptivas) asociadas con la cara tanto en la fase de estudio como en la fase de recuperación (Lehmann & Murray, 2005). Si dichas reactivaciones se hubieran producido durante la fase de estudio, éstas podrían haber favorecido la asociación entre la cara y la localización espacial a través de los mecanismos que sustentan el *priming* de repetición. Esta hipótesis viene avalada por el hecho de que la clave biográfica se presentó en la misma localización espacial que la cara. Por lo tanto, cada vez que una clave es congruente con una cara, el sujeto experimental tiene la posibilidad de asociar información sobre un mismo personaje con una misma localización espacial dos veces consecutivas. Por el contrario, cuando la clave es incongruente, el sujeto puede asociar dos identidades distintas con una misma localización espacial, lo que supone una clara interferencia para la memoria que posteriormente va a ser evaluada.

No obstante, es poco probable que el beneficio de la congruencia semántica se deba exclusivamente al *priming* de repetición. De hecho, en un estudio reciente realizado en nuestro laboratorio con adultos jóvenes, hemos constatado que es más fácil recordar que dos caras famosas han aparecido juntas cuando éstas comparten profesión que cuando tienen profesiones distintas (Alberca-Reina *et al.*, en revisión). En este caso, las caras famosas aparecen juntas el mismo número de veces independientemente de la condición de congruencia, por lo que puede descartarse el efecto de *priming* de repetición como principal responsable.

En los años 70 ya se adelantó que el efecto beneficioso de la congruencia semántica sobre la formación de nuevas asociaciones podría deberse a un aumento de la elaboración semántica durante la codificación (Craik & Tulving, 1975; Shulman, 1974). Esta hipótesis explicativa se ha visto respaldada por el incremento de actividad cerebral observado en regiones de la corteza prefrontal ventrolateral izquierda (Staresina *et al.*, 2009). Pero ello no quita que la congruencia semántica no actúe igualmente sobre los procesos atencionales, tal como se extrae del incremento de potencia observado en las oscilaciones theta generadas en regiones de la corteza parietal posterior (Atienza *et al.*, 2011; Crespo-García *et al.*, 2012). Esta mejora en el procesamiento semántico y atencional probablemente facilite la integración del evento con su contexto, lo que se traduce en un incremento de la respuesta hemodinámica (Staresina *et al.*, 2009) y neuroeléctrica (Atienza *et al.*, 2011) en regiones del LTM, así como en una reorganización de las relaciones funcionales entre el LTM y las regiones corticales de un circuito fronto-parietal cuya principal función es modular los procesos de atención, ya sea hacia aspectos exógenos de la tarea o hacia las memorias reactivadas endógenamente por el hipocampo (Crespo-García *et al.*, 2010).

No obstante, y como se comentó anteriormente, es importante subrayar que el beneficio de la congruencia semántica no parece suficiente para eliminar el déficit episódico que caracteriza a las personas mayores (Crespo-García *et al.*, 2012). Tal como se puso de manifiesto en este estudio, las personas mayores presentan un déficit neural que afecta a regiones de la corteza

prefrontal ventrolateral en el hemisferio izquierdo, que en ocasiones pueden compensar reclutando mecanismos neurales adicionales que operan no solo en la corteza prefrontal contralateral sino también en regiones del LTM, tales como el giro parahipocampal (Crespo-García *et al.*, 2012).

La corteza prefrontal ventrolateral del hemisferio izquierdo no solo ha mostrado ser un nodo esencial para el procesamiento semántico (Wagner *et al.*, 1998) sino que también ha resultado ser particularmente importante a la hora de codificar nuevas memorias a largo plazo. De hecho, hay evidencias que sugieren que esta región participa activamente en los procesos de selección encargados de dirigir la atención hacia la información relevante para la tarea y de inhibirla hacia los aspectos que son irrelevantes (Blumenfeld & Ranganath, 2007). Es por tanto posible que la reducción de la potencia espectral de las oscilaciones theta en la corteza prefrontal ventrolateral del hemisferio izquierdo observada en personas mayores (Crespo-García *et al.*, 2012) esté reflejando un déficit de atención durante la fase de codificación que podría ser responsable del deterioro de la memoria episódica que acompaña al envejecimiento.

De hecho, durante la fase de estudio del presente trabajo, los participantes fueron instruidos para que prestaran atención no sólo a la cara sino también a una determinada localización espacial, pero ninguna instrucción les indicó de forma explícita que debían atender igualmente a la relación entre la cara y la localización espacial. Sin embargo, evidencias previas sugieren que si la atención se focaliza en el ítem o en el contexto, pero no en la relación entre ambos, el déficit asociativo persiste (Glisky *et al.*, 2001). Es posible, por lo tanto, que la disminución de amplitud de las oscilaciones theta en regiones prefrontales esté reflejando déficits a la hora de dirigir la atención de forma automática hacia la relación existente entre el ítem y el contexto espacial. Queda por saber si este déficit funcional tiene asimismo un correlato anatómico.

El efecto beneficioso de la congruencia sobre la asociación entre la cara y la localización espacial no está únicamente mediado por áreas ventrolaterales de la corteza prefrontal, sino también por áreas mediales de la corteza prefrontal y por regiones del LTM (datos mostrados en la Tesis Doctoral de Maité Crespo García, Marzo 2013). Evidencias recientes derivadas de

estudios con roedores (Tse *et al.*, 2007, 2011) y humanos (Frankland & Bontempi, 2006; Takashima *et al.*, 2006; Van Kesteren *et al.*, 2010, 2012) sugieren que la presencia de conocimiento semántico previo (lo que ellos denominan *esquemas*) facilita la adquisición de nueva información porque promueve y acelera los procesos de consolidación en la neocorteza. En esta dirección, Van Kesteren *et al.* (2012) han propuesto que la corteza prefrontal ventromedial sería la encargada de detectar la coherencia entre la nueva información que debe ser adquirida y la información preexistente. De tal manera que cuando dicha coherencia esté presente, sería la corteza prefrontal ventromedial y no el hipocampo la región que se encargaría de los procesos de codificación y posterior consolidación. Sin embargo, y debido probablemente al deterioro de la función frontal, es posible que el efecto de la congruencia en las personas mayores descansa más sobre regiones del LTM. Los resultados del presente estudio apoyan esta hipótesis explicativa, ya que las personas mayores sanas mostraron una correlación positiva entre los cambios de volumen del hipocampo y el beneficio de la congruencia semántica.

En resumen, los resultados del presente estudio vienen a confirmar que las personas mayores sanas tienen menos problemas para formar nuevas asociaciones si la codificación se ve apoyada por la activación de un conocimiento semántico preexistente que es coherente con la información que debe ser almacenada. Pero el conocimiento disponible en cuanto a cuáles podrían ser los mecanismos responsables aún es escaso.

6.2. La codificación del contexto semántico no facilita la formación de nuevas asociaciones en las fases prodrómicas de la EA

Uno de los principales hallazgos del presente estudio es que los sujetos con DCLa, al igual que las personas mayores sanas, muestran una mejor ejecución en la tarea de reconocimiento visoespacial si existe un conocimiento semántico sobre los ítems. De hecho, la memoria asociativa fue mejor para las caras famosas que para las caras no famosas. Sin embargo, y al

contrario del grupo control, aquellos que sufren DCLa no se benefician de la congruencia semántica a la hora de codificar nuevas asociaciones episódicas, y cuando lo hacen suelen hacerlo en menor medida.

Son varios los factores que podrían explicar este resultado. El déficit podría estar tanto en la codificación como en la recuperación del conocimiento semántico asociado a las caras famosas, pero también podría estar causado por la menor capacidad para establecer relaciones no intencionales entre un ítem (la cara de la persona famosa) y su contexto (localización espacial). A continuación se analizan cada una de estas posibilidades teniendo en cuenta las evidencias existentes en la literatura.

Es un hecho bien establecido que los pacientes con EA no solo presentan déficits episódicos sino también una severa afectación de la memoria semántica (Chertkow & Bub, 1990; Hodges *et al.*, 1992; Hodges & Patterson, 1995). Pero es el conocimiento de las personas famosas el que disminuye sensiblemente en relación con otras formas de conocimiento semántico (Greene & Hodges, 1996; Thompson *et al.*, 2002). No es de extrañar, por tanto, que las personas mayores con DCLa se muestren más vulnerables cuando deben acceder al conocimiento semántico asociado a personas famosas o a edificios emblemáticos (Ahmed *et al.*, 2008; Joubert *et al.*, 2008, 2010). En consonancia con este resultado, se ha encontrado que la dificultad para nombrar personas famosas predice mejor la progresión de DCL a EA que la habilidad para nombrar objetos (Thompson *et al.*, 2002). De hecho, en un estudio longitudinal cuyo seguimiento duró 14 años y en el que 350 personas de un total de 3777 desarrollaron EA se observó que la primera función cognitiva afectada era el conocimiento semántico, aspecto que se puso de manifiesto 12 años antes del diagnóstico de EA (Amieva *et al.*, 2008).

Cabe la posibilidad de que los individuos con DCLa de nuestro estudio presentaran una capacidad disminuida para reconocer las caras de las personas famosas durante la codificación. Los resultados derivados de la fase de estudio y del *priming* conceptual no corroboran esta hipótesis. En primer lugar, porque las puntuaciones que mostraron en la tarea de congruencia semántica durante la fase de estudio fueron similares a las obtenidas por el

grupo control; y en segundo lugar, porque las personas con DCLa mostraron un claro efecto de *priming*, lo que significa que fueron capaces de acceder de forma automática a la información semántica codificada en la fase de estudio. En este punto, nos parece importante destacar que aun cuando todos los participantes dieron más respuestas correctas y respuestas más rápidas ante las caras famosas codificadas en un contexto semánticamente congruente que ante las caras famosas codificadas en un contexto incongruente, la ganancia asociada a la codificación semántica del contexto fue mayor en el grupo control que en el grupo con DCLa.

Alternativamente, cabe la posibilidad que el grupo con DCLa no se beneficiara del conocimiento semántico durante la tarea de reconocimiento visoespacial debido a una capacidad disminuida para acceder a la información semántica de forma intencional. La asunción que subyace a esta hipótesis es doble al presuponer que las ganancias conductuales requieren, por un lado, el acceso a la información semántica, y, por otro, que dicho acceso es de carácter intencional. Si ambas asunciones fueran correctas, diferentes resultados procedentes de diversas líneas de investigación podrían sustentar la hipótesis inicial.

En primer lugar, estudios realizados hace varias décadas han mostrado que aún cuando los recuerdos puedan estar disponibles, sólo es posible acceder a ellos cuando se presenta la clave adecuada (Tulving & Pearlston, 1966). Si la clave biográfica fuera la que explicara el beneficio de la congruencia semántica a la hora de recuperar la asociación, es obvio que, dado que esta no se presenta, los participantes deberían acceder a la misma, ya sea de forma automática o de forma intencional.

De acuerdo con la *hipótesis del déficit en la producción* (Craik & Byrd, 1982; Perlmutter & Mitchell, 1986; Smith *et al.*, 1998), las personas con la edad pierden espontaneidad a la hora de iniciar estrategias cognitivas (relacionales) durante la codificación y, muy especialmente, durante la recuperación. Pudiera ser por tanto que este déficit fuera más pronunciado en personas con DCLa, lo que podría conducir a fallos en el acceso al conocimiento semántico durante la recuperación. Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, esta hipótesis únicamente se ha evaluado de forma directa en personas mayores cognitivamente intactas (*e.g.*, Naveh-

Benjamin *et al.*, 2007). No obstante, los estudios realizados en esta dirección sugieren que tanto el acceso intencional como el automático están afectados en la EA, pero que es el acceso intencional el único que se ve dañado en las fases prodrómicas de la EA (Duong *et al.*, 2006). En línea con estos resultados, las personas mayores con DCLa de nuestro estudio fueron capaces de acceder de forma automática a la información semántica, tal como se deriva de los resultados obtenidos en la tarea de *priming* conceptual, pero muy probablemente no pudieran hacerlo durante la recuperación porque para ello habrían necesitado poner en marcha procesos ejecutivos de forma voluntaria.

Pero como demuestran otros estudios, más allá de que los pacientes con DCL puedan presentar una disminución de la capacidad para iniciar espontáneamente estrategias cognitivas, estos también tienen dificultades para hacer uso de los recursos cognitivos cuando así se les indica. Por ejemplo, en uno de estos estudios se orientó la atención de los participantes hacia las propiedades categóricas de los ítems que debían recordar, tanto durante la codificación como en la sesión posterior de recuperación (Adam *et al.*, 2007). De esta forma, si la palabra a codificar era 'palmera', el experimentador pedía a los participantes que indicaran la palabra que hiciera referencia a un árbol. Luego, durante la sesión de recuperación, el experimentador pedía que recordaran la palabra que era un árbol. Esta prueba mostró tener un alto grado de sensibilidad y especificidad no solo para discriminar entre pacientes con EA y personas mayores con DCL, sino también para distinguir a estos últimos de las personas mayores cognitivamente intactas. De estos resultados se extrae que los sujetos con DCL presentan una mayor dificultad que las personas mayores sanas para beneficiarse de una clave, tanto en el momento de la codificación como durante la recuperación posterior.

Otros estudios han aportado evidencias similares (Belleville *et al.*, 2002; Hudon *et al.*, 2006). En estos trabajos se emplearon pruebas que podían o no facilitar la codificación categórica. Las personas con DCL obtuvieron resultados similares a las personas mayores sanas cuando no hubo orientación durante la codificación. Por el contrario, los dos grupos fueron claramente diferentes bajo condiciones de codificación orientada, dado que solo los mayores sanos

lograron beneficiarse de las claves aportadas durante la codificación. Los resultados sugieren que incluso las personas cuyo DCL revierte con el tiempo también obtienen mejores puntuaciones en las pruebas de memoria cuando se les permite utilizar estrategias semánticas durante la codificación (Perri *et al.*, 2005, 2009). En conjunto, estos resultados y los nuestros pueden interpretarse como una evidencia de que las personas con DCL, al contrario que sus homólogos controles, tienen dificultad para utilizar la orientación semántica como una estrategia para paliar sus déficits de codificación y/o recuperación de nuevas memorias, ya sean para eventos aislados o para eventos relacionados. Estos déficits podrían deberse a una incapacidad a la hora de asociar el contexto con los elementos que constituyen el evento que después debe ser recordado (Belleville *et al.*, 2008), función realizada por el hipocampo. De acuerdo con esta hipótesis, se ha encontrado que las personas con DCL presentan un menor nivel de actividad del hipocampo que los controles durante la codificación exitosa de memorias asociativas, incluso después de eliminar los efectos que pudieran deberse a una atrofia del hipocampo (Hanseeuw *et al.*, 2011).

Por otra parte, la función ejecutiva podría ser igualmente responsable de esta dificultad para asociar un evento con su contexto. No en vano, el deterioro de la función ejecutiva que sufren los pacientes con EA se ha asociado a una capacidad reducida para acceder de forma intencional al conocimiento semántico (Daum *et al.*, 1996; Perri *et al.*, 2003). En nuestro estudio, los mayores con DCLa podrían presentar dificultades para inhibir la búsqueda semántica durante la codificación, independientemente de si las caras son congruentes o incongruentes con la clave biográfica, aunque es posible que dicha inhibición resulte más compleja cuando las caras son semánticamente incongruentes. Este hecho podría interferir en el momento de establecer la asociación entre la cara y la localización, lo que explicaría las escasas ganancias observadas en la tarea de memoria que se realiza posteriormente. Como el conocimiento semántico de las caras famosas está afectado en las personas con DCLa, se esperaría que la búsqueda semántica fuera más intensa y más duradera en este grupo comparado con los controles (Estévez-González *et al.*, 2004).

Por último, cabe la posibilidad de que únicamente las personas mayores sanas se hayan beneficiado de la repetición de los ensayos durante la codificación. En la fase de estudio, cada cara apareció tres veces en la misma localización espacial aunque con claves biográficas diferentes. Estudios previos sugieren que tanto los jóvenes como las personas mayores sanas son capaces de beneficiarse de la repetición a la hora de formar nuevas asociaciones (Kilb & Naveh-Benjamin, 2011). La repetición facilitaría el que la cara y la localización se convirtieran en un único evento, aumentando con ello el recuerdo basado en procesos de familiaridad, que son más automáticos que los procesos de reconocimiento basados en la recuperación de elementos contextuales (Yonelinas, 2002). De hecho, hay trabajos que sugieren que con la edad únicamente se pierde la capacidad para recuperar aspectos relacionados con el contexto, mientras que el reconocimiento basado en la familiaridad permanece intacto (Hay & Jacoby, 1999; Jennings & Jacoby, 1993, 1997; Light *et al.*, 2004; Maylor, 1995; Rhodes *et al.*, 2008). Ambos procesos se ven afectados por igual en las personas mayores con DCL (Wolk *et al.*, 2008). Por lo que es posible que el déficit asociativo que presenta este grupo en comparación con los controles se debiera a que la repetición solo resultó ventajosa para estos últimos. Sin embargo, este hecho, por sí solo, no explica por qué las personas con DCLa no se beneficiaron de la congruencia semántica, ya que tanto las caras congruentes como las incongruentes se presentaron el mismo número de veces.

En resumen, podemos concluir que las personas con DCLa apenas se benefician del contexto semántico a la hora de codificar y/o recuperar memorias asociativas. Aunque se desconocen las causas que pudieran alterar esta capacidad funcional en las fases prodrómicas de la EA, nos decantamos por la hipótesis de que el acceso intencional al conocimiento semántico está seriamente comprometido. Esta alteración funcional puede, por una parte, prolongar el proceso de búsqueda semántica durante la codificación, y por consiguiente, interferir en los procesos asociativos; y, por otra, impedir o retrasar el acceso a la clave adecuada para recuperar las asociaciones previamente adquiridas.

6.3. El deterioro de la memoria asociativa en personas mayores con DCLa se relaciona con atrofias en la corteza entorrinal y en el hipocampo

El presente estudio ha puesto de manifiesto que las personas mayores que sufren DCLa, no solo no se benefician del procesamiento semántico como lo harían los mayores sanos, sino que además muestran un peor rendimiento en la tarea de memoria asociativa. Es por ello que el reconocimiento visoespacial se vio afectado independientemente de si las caras fueron famosas o no, o de si fueron codificadas en condiciones de congruencia o incongruencia semántica.

6.3.1. Lateralización hemisférica de las atrofias asociadas al deterioro de la memoria asociativa

De acuerdo con nuestra hipótesis de partida, el déficit asociativo se relaciona con cambios de volumen que afectan no solo al hipocampo sino que también se extienden a la corteza entorrinal. En particular, nuestros resultados sugieren que si bien estos cambios son evidentes en el hipocampo a nivel bilateral, la extensión de los mismos es mayor en el hemisferio derecho, y en el caso de la corteza entorrinal se restringen al hemisferio derecho.

La causa de dicha asimetría podría estar relacionada con la naturaleza de la tarea. De hecho, en un estudio de RMf se observó que el incremento de activación de la corteza entorrinal y perirrinal predominaba en el hemisferio izquierdo o derecho dependiendo de si se codificaba la identidad de los objetos o su localización, respectivamente (Belgovan *et al.*, 2009). Esta lateralización, tanto del hipocampo como de la corteza entorrinal, también se ha replicado cuando se ha comparado el reconocimiento de asociaciones frente al de ítems aislados (Kirwan & Stark, 2004; Tsukiura *et al.*, 2008).

La sensibilidad mostrada por la RMf ante la naturaleza del material codificado podría tener su correlato anatómico en la RM estructural. En un estudio realizado en pacientes con EA probable se encontró que el volumen del hipocampo izquierdo mostraba una correlación

positiva con la memoria verbal mientras que el volumen de la misma región en el hemisferio derecho mostraba una correlación positiva con la memoria espacial (deToledo-Morrell *et al.*, 2000a). Sin embargo, y en contra de esta idea, en otro estudio realizado en una muestra de mayores sanos, sujetos con DCL y pacientes con EA probable, se observó que las puntuaciones obtenidas en una tarea de memoria verbal inmediata (codificación de pares de palabras relacionadas) correlacionaba con el grado de atrofia del hipocampo a nivel bilateral, de la corteza entorrinal posterior derecha, y de la corteza perirrinal izquierda (Leube *et al.*, 2008).

Los resultados del estudio de Leube *et al.* (2008) se asemejan mucho a los hallados en el presente trabajo, pero existen importantes diferencias que merecen un comentario adicional. En primer lugar, la tarea de memoria utilizada en este estudio hace referencia a la codificación de una tarea verbal y no tanto a una memoria a largo plazo. Con lo que es muy posible que los resultados estén reflejando un deterioro en la memoria de trabajo más que alteraciones en la memoria a largo plazo (Baddeley, 2000). Y en segundo lugar, el hecho de que la lateralización hacia la derecha en la corteza entorrinal se haya observado independientemente del tipo de memoria evaluada (verbal vs. espacial) y del tipo de procesos implicados (codificación vs. recuperación), disminuye la posibilidad de que dicha asimetría esté relacionada con la naturaleza de la tarea.

La lateralización del resultado hacia el hemisferio derecho podría estar causada por los cambios anatómicos macroscópicos que se producen durante el transcurso de la EA como consecuencia de las lesiones cerebrales confirmadas en estudios *post mortem*, las cuales pueden cuantificarse a partir de los cambios de volumen en RM (Mortimer *et al.*, 2004). Así, estudios longitudinales de volumetría de la corteza entorrinal y del hipocampo cuyo objetivo ha sido evaluar el valor predictivo de estos índices en la conversión de DCL a EA encuentran que las reducciones volumétricas que se producen en el hemisferio derecho tienen una mayor capacidad predictiva que las que se producen en el hemisferio izquierdo (deToledo-Morrell *et al.*, 2004; Tapiola *et al.*, 2008). Aunque se ha sugerido que estas diferencias hemisféricas

podrían deberse a la asimetría observada en la progresión de la EA, la cual afecta más al hemisferio derecho que al izquierdo (Apostolova *et al.*, 2007; Barbeau *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2009), deberíamos ser cautos con esta interpretación dada la heterogeneidad que típicamente caracteriza al grupo de DCL y a las escasas evidencias proporcionadas hasta la fecha por los estudios *post mortem*.

6.3.2. Relación entre la atrofia de la corteza entorrinal y el deterioro de la memoria asociativa

Hasta nuestro conocimiento, ningún otro estudio transversal ha sido capaz de distinguir a controles y personas con DCL en función de las relaciones encontradas entre el deterioro de la memoria asociativa y la disminución de volumen de la corteza entorrinal, estructura cerebral que muestra lesiones asociadas a la EA desde sus estadios más tempranos (Braak & Braak, 1991, 1995). La mayoría de los resultados disponibles coinciden en que los déficits de memoria en pacientes con EA probable se relacionan con una pérdida de integridad anatómica en el hipocampo, mientras que la reducción de volumen en la corteza entorrinal resulta más eficaz para predecir la conversión de DCL a EA (para una revisión ver deToledo-Morrell *et al.*, 2007). Tan solo un estudio longitudinal realizado en mayores sanos ha relacionado los procesos de memoria asociativa con la integridad anatómica de la corteza entorrinal y del hipocampo (Rodrigue & Raz, 2004). En esta ocasión, también fue la tasa anual de atrofia de la corteza entorrinal el único descriptor capaz de predecir el deterioro progresivo de la memoria. Estos resultados están en consonancia con hallazgos obtenidos a partir de estudios realizados con PET-FDG (de Leon *et al.*, 2001). En este caso, la reducción del metabolismo de la corteza entorrinal también fue capaz de predecir el deterioro cognitivo en mayores sanos. Más recientemente, un resultado similar al de Rodrigue y Raz (2004) se ha obtenido midiendo el espesor cortical de diferentes regiones del LTM en personas mayores con DCL (Burggren *et al.*, 2011). En este caso, cuanto menor fue el espesor de la corteza entorrinal y del subículum en la primera visita, mayor fue la afectación de la memoria en los dos años siguientes. Estudios realizados con RMf también indican la presencia de un funcionamiento anómalo de la corteza entorrinal, pero no siempre en la misma dirección. Durante las fases prodrómicas de la EA

pueden observarse incrementos anormales de activación en esta región mientras que en las fases clínicas se produce una disminución significativa de su activación (e.g., Dickerson *et al.*, 2005).

Cabe preguntarse por tanto por qué ningún estudio transversal hasta la fecha ha sido capaz de establecer una relación entre la atrofia de la corteza entorrinal y el deterioro de la memoria asociativa en personas con DCL, máxime cuando esta región es clave para la formación de nuevas asociaciones, especialmente para la consolidación y expresión de las memorias que son altamente dependientes del hipocampo (Eichenbaum, 2000; Fernandez & Tendolkar, 2006). Es posible que las medidas de volumetría convencionales (basadas en el tamaño de toda la región de interés; e.g., Stoub *et al.*, 2006) no sean suficientemente sensibles para detectar este déficit. De hecho, en un estudio realizado con morfometría basada en el vóxel en personas con DCL se encontró que el recuerdo verbal inmediato correlacionaba con una reducción de sustancia gris en las cortezas perirrinal y entorrinal del hemisferio izquierdo, mientras que el hipocampo izquierdo lo hacía con el recuerdo verbal demorado (Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009). Pero, como en el caso del estudio de Leube *et al.*, (2008), este resultado esté probablemente más relacionado con la memoria de trabajo que con la memoria a largo plazo (Axmacher *et al.*, 2008a, 2008b; Baddeley, 2000; Beauchamp *et al.*, 2008; Hannula & Ranganath, 2008). Cabe resaltar además que en el estudio de Schmidt-Wilcke *et al.* (2009) se delimitaron regiones de interés, cosa que no se había hecho en estudios previos (Chételat *et al.*, 2003), y, de haberse hecho tal delimitación, no se había contemplado la corteza entorrinal como región de interés (Hämäläinen *et al.*, 2007).

Sobre la base de estas y otras evidencias, se ha sugerido que el hipocampo estaría implicado tanto en los procesos de codificación como de recuperación, mientras que la corteza entorrinal y las otras cortezas adyacentes lo estarían específicamente en los procesos de codificación, sean mayores sanos (Ludowig *et al.*, 2008; Staresina & Davachi, 2008) con DCL (Chételat *et al.*, 2003; Burggren *et al.*, 2011; Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009) o diagnosticados con EA probable (Berlinger *et al.*, 2008). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que la corteza entorrinal

también podría ser importante para los procesos relacionados con la formación de la memoria a largo plazo. De hecho, si la función de la corteza entorrinal solo fuera importante para los procesos de codificación, las diferencias entre los dos grupos en las correlaciones con la d' semántica también se habrían extendido a la corteza entorrinal. Esta afirmación se sustenta en el hecho de que las diferencias entre congruencia e incongruencia solo fueron evidentes durante la codificación debido a la ausencia de claves semánticas durante la recuperación.

La corteza entorrinal es el principal interfaz entre el hipocampo y la neocorteza (Van Hoesen, 1982; Van Hoesen *et al.*, 1972). Y aunque son muchos los estudios que han intentado determinar la función concreta que desempeña cada una de las regiones que componen el hipocampo y las regiones corticales adyacentes, entre ellas la corteza entorrinal (Mayes *et al.*, 2007; Squire *et al.*, 2004), aún no ha sido posible establecer esta disociación de una forma clara. Las evidencias más sólidas a favor de que la corteza entorrinal juega un papel relevante en la memoria asociativa proceden de un estudio realizado en monos a los que se les había practicado una lesión bilateral de la corteza entorrinal (Buckmaster *et al.*, 2004). Los monos lesionados mostraron un rendimiento muy similar a los controles en aquellas tareas cuya solución dependía de la memoria para los ítems aislados, mientras que respondían peor ante las tareas en las que finalmente se evaluaba su capacidad para relacionar los elementos previamente estudiados en una combinación diferente. Sin embargo, por muy sólidos que puedan parecer estos resultados, también existen evidencias con humanos que indican que si bien el hipocampo es fundamental para la codificación de asociaciones, la corteza entorrinal y parahipocampal únicamente lo son para la codificación de ítems aislados (Davachi & Wagner, 2002).

Dado que uno de los primeros signos evidentes de la EA es la pérdida de neuronas en la capa II de la corteza entorrinal (Gómez-Isla *et al.*, 1996; Hyman *et al.*, 1984), hecho que ya puede observarse en personas con DCL (Kordower *et al.*, 2001), cabe preguntarse si dicha pérdida neuronal podría ser en sí misma la responsable del deterioro de la memoria asociativa. Estas neuronas reciben información de la corteza sensorial primaria y de la corteza de asociación,

que luego trasladan al hipocampo a través de la vía perforante, un tracto de fibras nerviosas que se encuentra localizado en la porción antero-medial del giro parahipocampal (Amaral *et al.*, 1987; Van Hoesen *et al.*, 1972; Van Hoesen & Pandya, 1975). Es por ello que se ha sugerido que la pérdida neuronal de la capa II en la corteza entorrinal podría causar una desconexión del flujo de información hacia el hipocampo (Hyman *et al.*, 1984; ver también deToledo-Morrel *et al.*, 2007).

En línea con esta hipótesis, se ha encontrado que el daño de sustancia blanca parahipocampal contribuye a los problemas de memoria episódica que presentan las personas mayores con DCL (Stoub *et al.*, 2006). Es importante subrayar que si bien estos investigadores encontraron una correlación muy significativa entre el deterioro de la memoria y los cambios de volumen de la corteza entorrinal y del hipocampo, las relaciones de estos cambios de volumen de sustancia gris con los cambios de sustancia blanca en el giro parahipocampal fueron muy débiles (Stoub *et al.*, 2006). Luego es difícil determinar si la muerte neuronal en la corteza entorrinal fue la principal causante de la disminución de volumen observada en la sustancia blanca parahipocampal. De hecho, estas alteraciones podrían reflejar más bien una pérdida de mielina, derivada del daño que sufren los oligodendrocitos como consecuencia de la presencia de radicales libres y de otras alteraciones metabólicas (Bartzokis, 2004; Bartzokis *et al.*, 2006). Los oligodendrocitos que se desarrollan más tardíamente serían los más vulnerables, y ello explicaría que sean las áreas de asociación que más tarde se mielinizan las que son más susceptibles a la pérdida de mielina, produciendo una desconexión entre diferentes áreas corticales que bien podría desembocar en el deterioro cognitivo que desarrollan las personas mayores con DCLa (Wang *et al.*, 2012).

Aunque son muchos los estudios que han estudiado la integridad de la microestructura de la sustancia blanca del giro parahipocampal utilizando DTI, ninguno de ellos ha correlacionado dichos cambios con el rendimiento en pruebas de memoria en individuos con DCL (para una revisión ver Gold *et al.*, 2012; Stebbins & Murphy, 2009). Esta relación sí se ha evaluado en pacientes con EA, encontrándose que el deterioro de la memoria está relacionado tanto con

una reducción del índice de coherencia (*i.e.*, una medida de la similitud de la difusión entre vóxeles adyacentes; Kalus *et al.*, 2006) como con el aumento de difusividad media y con la reducción de volumen en la sustancia blanca parahipocampal (Wang *et al.*, 2012). Aunque falta por saber si dicha relación se da también en personas con DCL, evidencias recientes sugieren que estos daños son capaces de predecir el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento normal (Zhuang *et al.*, 2012).

En nuestro caso particular, es imposible determinar si los cambios de volumen afectaron a la sustancia gris o a la sustancia blanca ya que los determinantes jacobianos no permiten hacer esta distinción. El principal motivo que nos llevó a no trabajar sobre los mapas de sustancia gris/blanca fue evitar el suavizado que tanta distorsión produce sobre los resultados de los análisis estadísticos. Por lo tanto, cabe la posibilidad de que los cambios de volumen de la sustancia blanca sean los que más hayan contribuido al deterioro de la memoria asociativa observado en nuestra muestra de sujetos con DCLa.

6.3.3. Relación entre la atrofia de CA y el deterioro de la memoria asociativa

Las lesiones del hipocampo practicadas en roedores se acompañan de un peor rendimiento en tareas de memoria asociativa (Eichenbaum & Cohen, 2001; Konkell & Cohen, 2009), incluso cuando los procesos de codificación y recuperación se producen de forma automática (Henke *et al.*, 2003a, 2003b). Luego no es de extrañar que esta relación pueda extenderse también a los humanos, y más concretamente que permita distinguir a mayores sanos de aquellos otros con DCLa. Al contrario que ocurre con la corteza entorrinal, son muchos los estudios que han puesto de manifiesto una relación entre el deterioro de la memoria episódica y los cambios de volumen en el hipocampo no solo en pacientes con EA (deToledo-Morrell *et al.*, 2000a, 2000b; Grundman *et al.*, 2003; Köhler *et al.*, 1998; Mori *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1996) sino también en personas mayores con DCL (Convit *et al.*, 1997; Chételat *et al.*, 2003; Fjell *et al.*, 2008; Hanseeuw *et al.*, 2011; Jhoo *et al.*, 2010; Leube *et al.*, 2008; Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009; Serra *et al.*, 2010; Stoub *et al.*, 2006, 2010).

Las máscaras probabilísticas de la corteza entorrinal y de la formación del hipocampo empleadas en este estudio, basadas en delimitaciones citoarquitectónicas a partir de 10 cerebros humanos *post mortem* (Amunts *et al.*, 2005), no permiten distinguir entre las diferentes subcapas de CA, pero la localización de los efectos que se ha ilustrado en la Figura 12 sugiere que el déficit asociativo podría estar relacionado con cambios en CA1, al menos en el hemisferio izquierdo. En el caso del hemisferio derecho, los cambios de volumen parecen afectar más a la transición entre CA1 y CA2, si bien no puede descartarse que parte de estos cambios también hayan afectado a CA3. Hasta la fecha, no ha sido posible relacionar cada región del hipocampo con un proceso de memoria particular (Carr *et al.*, 2010). Algunas evidencias apuntan a que CA1 jugaría un papel específico en los procesos de codificación e inespecífico en los procesos de recuperación (*e.g.*, Fouquet *et al.*, 2012). Sin embargo, establecer esta disociación es prácticamente imposible debido a que no existe ninguna prueba capaz de medir de forma totalmente independiente cada uno de estos procesos.

Los estudios de lesión son los que más evidencias han aportado a favor del papel de CA1 en los procesos de codificación (Bartsch & Deuschl, 2010). De hecho, el primer caso informado en la literatura sufría una lesión de esta región del hipocampo, y si bien el sujeto afectado por dicha lesión podía recuperar información del pasado, era incapaz de codificar nueva información (Zola-Morgan *et al.*, 1986). Además, evidencias más recientes han alimentado la hipótesis de que la parte anterior del hipocampo está más relacionada con los procesos de codificación, mientras que la parte posterior lo está con los procesos de recuperación (Lepage *et al.*, 1998). En el caso particular de personas con DCLa se ha encontrado que el deterioro de los procesos de codificación se relaciona con atrofas en regiones anteriores del hipocampo (Leube *et al.*, 2008). En contra de esta hipótesis rostro-caudal, otros autores han subrayado que el hipocampo al completo es crucial para los procesos de codificación (Schacter & Wagner, 1999). Como CA1 predomina en la parte anterior del hipocampo pero también se extiende en el eje antero-posterior, tanto el resultado de Lepage *et al.* (1998) como el de Leube *et al.* (2008) son consistentes con ambas hipótesis, que relacionan a esta región del hipocampo con los procesos de codificación.

No obstante, evidencias recientes sugieren que el hipocampo también es importante para la recuperación de memorias. De hecho, en un estudio de miedo condicionado al contexto realizado en ratones, el rendimiento en la tarea se vio seriamente afectado cuando en el momento de la recuperación, varias semanas más tarde, se inactivaron las células glutamatérgicas de la capa CA1 mediante técnicas optogenéticas (*i.e.*, utilizando la luz como agente inductor) (Goshen *et al.*, 2011). Este hallazgo resalta la importancia de CA1 en los procesos de recuperación de memoria remota. Y podría explicar por qué en nuestro estudio la correlación entre los cambios de volumen en esta región y la memoria asociativa fue mayor en controles sanos que en personas con DCLa. Es posible que estos últimos hayan sufrido una pérdida de volumen tan marcada que la mermada capacidad para recuperar las nuevas asociaciones establecidas durante la codificación haya pasado a ser más dependiente de otras regiones de la neocorteza. En línea con esta hipótesis, Goshen *et al.* (2011) mostraron que cuando las células de CA1 son activadas durante la recuperación, estas son capaces de reclutar otras células en el cíngulo anterior, las cuales podrían ayudar a reactivar las representaciones que deben ser recuperadas.

La muerte neuronal (West *et al.*, 1994, 2000) y la presencia de ONF en CA1 no solo son las primeras evidencias anatómo-patológicas de la EA (Van Hoesen & Hyman, 1990) sino que el deterioro progresivo de CA1 correlaciona con la fase y la duración de la enfermedad (Bobinski *et al.*, 1995, 1997). De acuerdo con estos hallazgos, estudios realizados con RM han observado una pérdida significativa de volumen de CA1 en pacientes con EA (Chételat *et al.*, 2008; Csernansky *et al.*, 2000; Frisoni *et al.*, 2008; Scher *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2009), que además de resultar evidente en las fases prodrómicas de la enfermedad (Chételat *et al.*, 2008) permite discriminar mejor entre controles y personas con DCLa (Pluta *et al.*, 2012). De hecho, la pérdida de volumen de esta región en particular también posee valor predictivo al establecer la evolución a DCL en personas mayores sanas (Apostolova *et al.*, 2010), y la posterior progresión hacia el diagnóstico de EA (Apostolova *et al.*, 2006b). Hay evidencias que muestran que los daños estructurales en CA1 están más relacionados con los efectos de la neurodegeneración, mientras que la pérdida de integridad anatómica del

subículum (Chételat *et al.*, 2008) o del giro dentado (Small *et al.*, 2004a) lo están más con los procesos asociados al envejecimiento normal. Por último, otros estudios han mostrado que el recuerdo libre demorado correlaciona tanto con la pérdida sináptica en CA1 (Scheff *et al.*, 2007) como con la distancia radial al hipocampo (una medida del espesor hipocampal) en CA1 en sujetos con DCL (Apostolova *et al.*, 2006a, 2010).

Las atrofas en CA1 han mostrado también estar relacionadas con atrofas en otras estructuras cerebrales estrechamente relacionadas con la formación de nuevas memorias. En esta dirección, se ha mostrado que la reducción de volumen de CA1, tanto en DCL como en pacientes con EA probable, se relaciona con lesiones de la sustancia blanca en el fórnix. Si bien ambos tipos de lesiones predicen la pérdida de memoria en estas personas, sólo las medidas referidas al hipocampo predicen el déficit episódico cuando ambos índices se incluyen conjuntamente en el modelo estadístico (Lee *et al.*, 2012). El fórnix es la principal vía de entrada colinérgica al hipocampo y la principal vía de salida del hipocampo hacia los núcleos anteriores del tálamo, los cuerpos mamilares, el estriado y la corteza prefrontal (Aggleton & Brown, 1999). La investigación desarrollada tanto en animales como en humanos indica que los daños estructurales en el fórnix y en los cuerpos mamilares están relacionados con déficits cognitivos entre los que se encuentran la memoria episódica (*e.g.*, Copenhaver *et al.*, 2006; Gaffan, 2001; Kapur *et al.*, 1998; Parker & Gaffan, 1997; Tate & Bigler, 2000). Por lo tanto, es posible que la pérdida de volumen en CA1 observada en nuestro grupo con DCLa esté reflejando daños en el fórnix, los cuales a su vez sean los verdaderos responsables del deterioro cognitivo. De hecho, en otro estudio reciente se ha encontrado que las personas con DCL muestran una reducción volumétrica del fórnix (Metzler-Baddeley *et al.*, 2012). Sin embargo, estos investigadores encontraron que el deterioro cognitivo del grupo con DCL estaba más relacionado con cambios de volumen en el giro parahipocampal, mientras que en controles el deterioro cognitivo propio del envejecimiento correlacionó con cambios de volumen en el fórnix. Estos hallazgos ponen de manifiesto que, al menos en las fases prodrómicas de la EA, los sujetos pueden utilizar vías alternativas a las afectadas por la propia enfermedad para poder desarrollar sus funciones en los diferentes procesos de memoria.

En resumen, las evidencias revisadas sugieren que los cambios de volumen de la corteza entorrinal y de la región CA1 del hipocampo podrían contribuir al deterioro de la memoria asociativa mostrado por el grupo con DCLa del presente estudio. Dichos cambios podrían reflejar una muerte neuronal y/o daños colaterales en la sustancia blanca del giro parahipocampal y/o del fórnix. Son necesarios nuevos estudios para establecer con un mayor grado de certeza si estos sistemas de fibras nerviosas participan en los diferentes procesos de formación de la memoria, y si su deterioro en personas mayores con DCLa podría resultar en la utilización de circuitos cerebrales alternativos para crear y/o recuperar nuevas asociaciones.

6.4. La atrofia del hipocampo podría explicar el menor beneficio de la congruencia semántica en el grupo con DCLa

La capacidad limitada mostrada por las personas mayores con DCLa para beneficiarse de la congruencia semántica en la formación de nuevas asociaciones también correlacionó con una disminución significativa del volumen en el hipocampo. De hecho, aunque las áreas afectadas por las diferencias en las correlaciones con la d' semántica entre los dos grupos fueron algo más extensas que las que mostraron diferencias en las correlaciones con la d' asociativa, dichas diferencias se manifestaron selectivamente en CA, fundamentalmente en CA1 y en la transición CA1-CA2.

A lo largo de esta Discusión hemos sugerido que la incapacidad de los sujetos con DCLa para beneficiarse de la congruencia semántica podría estar tanto en la codificación como en la recuperación de la información. El hecho de que la clave semántica estuviera únicamente presente durante la fase de estudio apunta a que las diferencias entre ambos grupos se debieron, al menos en parte, a un déficit en los procesos de codificación. Sin embargo, el hecho de que las diferencias entre grupos en las correlaciones se localizaran en CA1, región de salida de la información del circuito trisináptico del hipocampo, más que en una de entrada sugiere que el déficit también estuvo presente en la recuperación. Esta interpretación

encuentra soporte experimental en resultados obtenidos con RMf, los cuales han mostrado que regiones de entrada al hipocampo, como el giro dentado y las capas CA2 y CA3, se activan selectivamente durante la codificación exitosa mientras que las regiones de salida del hipocampo, como CA1 y subículum, lo hacen durante la recuperación (para una revisión ver Carr *et al.*, 2010).

Además, las diferencias grupales en cuanto a las relaciones entre el hipocampo y la d' semántica podrían estar indicándonos que la formación de nuevas asociaciones depende de diferentes estructuras cerebrales en controles sanos y DCLa. Como se ha comentado anteriormente, hay evidencias que apoyan la implicación de la corteza prefrontal ventromedial en los procesos de formación de la memoria cuando existe conocimiento previo (e.g., Van Kesteren *et al.*, 2012). Es posible que las diferentes relaciones entre el volumen del hipocampo y el rendimiento en la condición de congruencia semántica esté indicándonos que las personas con DCLa dependen en mayor medida de esta región cerebral como consecuencia del deterioro de la corteza prefrontal, cuyo adecuado funcionamiento es igualmente importante para la codificación y posterior recuperación. En consonancia con esta hipótesis, varios estudios han mostrado que el hipocampo está más activado durante la codificación exitosa (estímulos recordados en la prueba de memoria) que durante la codificación no exitosa (estímulos olvidados en la prueba de memoria) en función de las demandas de la tarea (Carr *et al.*, 2013; Gazzaley *et al.*, 2005; Uncapher & Rugg, 2009; Yi & Chun, 2005). Por lo tanto, estos resultados sugieren que el nivel de activación del hipocampo está supeditado a la influencia *top-down* que ejerce la codificación.

6.5. Influencia del componente genético

Aunque son numerosos los estudios que han puesto de manifiesto que la presencia de ApoE4 es el principal factor de riesgo genético para desarrollar la EA, pocos trabajos han evaluado el impacto de este polimorfismo genético en la memoria propiamente dicha. Nuestros resultados

han puesto de manifiesto un efecto significativo del ApoE4 en la memoria asociativa en mayores con DCLa. Las personas con DCLa portadoras del alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon 4^+$) presentaron un peor rendimiento en la tarea visoespacial que los DCLa no portadores de dicho polimorfismo ($\epsilon 4^-$). A eso se une que los DCLa $\epsilon 4^+$ se beneficiaron menos de la codificación semántica a la hora de formar nuevas asociaciones. Resultados similares se han encontrado en pacientes con EA probable (Wolk *et al.*, 2010). Por lo tanto, estos hallazgos nos conducen a la cuestión de cómo el genotipo ApoE4 puede ejercer su influencia negativa sobre la memoria asociativa en las fases prodrómicas de la EA.

Una posibilidad es que el gen ApoE, al ser el responsable de gran parte del transporte de lípidos y de estar involucrado en el proceso de reparación de daños cerebrales, no logre que estos procesos ocurran de forma eficiente al sufrir mutación para la forma ApoE4 (Liu *et al.*, 2013), siendo el resultado final un deterioro de la función cognitiva (Praetorius *et al.*, 2013; Salmon *et al.*, 2013; Yoon *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2013). La presencia de ApoE4 también perjudica el metabolismo de los oligómeros A β , haciendo que éstos crezcan en proporciones inusuales. De acuerdo con esta idea se ha observado que los cerebros de pacientes con EA $\epsilon 4^+$ presentan una cantidad mucho mayor de A β que los cerebros de pacientes con EA $\epsilon 4^-$. La elevada cantidad de agregados de A β favorece la pérdida dendrítica y acelera el déficit de memoria en los pacientes con EA en su fase prodrómica (Hashimoto *et al.*, 2012).

Además de establecer una relación entre ApoE4 y el deterioro cognitivo, parece oportuno evaluar si existe también una asociación entre este alelo y las estructuras anatómicas involucradas en los procesos cognitivos que están afectados en las personas con DCL y en los pacientes con EA, sobre todo el hipocampo, estructura clave para la integridad de la memoria. Aunque nuestro estudio no ha arrojado resultados positivos en esta dirección, evidencias previas sugieren que existe una asociación entre la presencia del genotipo ApoE4 y la cantidad de hiperintensidades de la sustancia blanca cerebral (Schilling *et al.*, 2013; Son *et al.*, 2012; Yoon *et al.*, 2013), la atrofia hipocampal (Ferencz *et al.*, 2013; Moffat *et al.*, 2000; O'Dwyer *et al.*, 2012; Schuff *et al.*, 2009; Van de Pol *et al.*, 2007) y el volumen de la corteza entorrinal

(Rodríguez *et al.*, 2013). Quizás el reducido tamaño de la muestra de nuestro estudio haya sido el factor responsable de la ausencia de resultados positivos.

6.6. Limitaciones metodológicas

Existen algunas limitaciones metodológicas que nos obligan a ser cautos a la hora de interpretar nuestros resultados. En primer lugar, el promedio de edad de los diez cerebros *post mortem* de los mapas citoarquitectónicos utilizados como máscaras fue de 64,9 años con una desviación típica de 16,9 años (Amunts *et al.*, 2005), lo que significa que la edad varió entre 37 y 85 años. Afortunadamente, la variabilidad intersujeto para las máscaras utilizadas en el presente estudio no fue tan alta como cabría esperar si se hubiera tratado de regiones corticales. En particular, el volumen individual de los núcleos hipocampales y de la corteza entorrinal varió de 1,7 a 2 mm³ (Amunts *et al.*, 2005). Un estudio reciente ha delineado las diferentes estructuras del hipocampo en 50 sujetos sanos con edades comprendidas entre 19 y 68 años (La Joie *et al.*, 2010). Los resultados de este estudio revelaron que solo el volumen del subículum se vio claramente afectado por la edad, mientras que los principales resultados del presente estudio se han limitado a la región CA del hipocampo.

Otra limitación importante es la falta de validación de mapas probabilísticos automáticos del LTM. Esta validación únicamente existe para estructuras como el tálamo, caudado, putámen y amígdala (Garibotto *et al.*, 2011). Los resultados mostraron volúmenes muy similares a partir de la delineación manual y automática. Desafortunadamente, la secuencia T1 empleada en nuestro estudio (MP-RAGE realizada en un escáner de 1,5 T) no proporciona ni la resolución ni el contraste necesario para la delineación manual de las diferentes regiones del hipocampo. Consecuentemente, los bordes de la delimitación manual de las regiones de interés podría estar sometida a una gran variabilidad intra e inter sujetos.

Por último, y como se ha mencionado más arriba, el reducido tamaño de la muestra puede ser responsable de la falta de correlación entre los índices de memoria y los cambios de volumen en aquellos DCLa $\epsilon 4^+$.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Las personas con DCLa muestran un deterioro de la memoria asociativa más severo que sus homólogos controles, y al contrario que estos, no utilizan la congruencia semántica como una estrategia para paliar sus déficits de codificación y/o recuperación.
2. A favor de la idea de que el fenotipo cognitivo de la EA guarda una estrecha relación con el patrón espacial de la taupatía subyacente, el déficit asociativo mostrado por el grupo con DCLa se relaciona con cambios de volumen que afectan no solo a regiones específicas del hipocampo, fundamentalmente a CA1 y a la transición CA1-CA2, sino también a la corteza entorrinal. Estudios futuros deberán determinar si dichos cambios reflejan una muerte neuronal y/o daños colaterales en la materia blanca del giro parahipocampal y/o del fórnix. En cualquier caso, esta relación parece más evidente en el hemisferio derecho, por lo que en el futuro también resultaría recomendable evaluar la capacidad de esta relación para predecir la conversión de DCL a EA.
3. La incapacidad mostrada por el grupo con DCLa para beneficiarse de la congruencia semántica durante la codificación se relaciona igualmente con cambios de volumen en CA1 y en la transición CA1-CA2. El hecho de que esta región sea una de las principales vías de salida de la información del circuito trisináptico del hipocampo apoya la tesis de que la incapacidad para beneficiarse de la congruencia semántica no se limita a la codificación, sino que se extiende asimismo a los procesos de recuperación.
4. La presencia del polimorfismo ApoE4 determina la extensión del déficit asociativo en las personas con DCLa. Tanto la memoria asociativa como el posible beneficio de la congruencia semántica disminuyen drásticamente en los portadores de este polimorfismo. Aunque los resultados de este estudio sugieren que estos efectos no guardan relación alguna con los cambios de volumen observados en la formación hipocampal, el reducido tamaño de la muestra nos obliga a ser cautos a la hora de extraer conclusiones al respecto.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Cabronero J, Williams GB, Pereira JM, Pengas G, Nestor PJ. 2008. The impact of skull-stripping and radio-frequency bias correction on grey-matter segmentation for voxel-based morphometry. *Neuroimage*, 39, 1654-1665.
- Adam S, Van der Linden M, Ivanoiu A, Juillerat A.-C, Bechet S, Salmon E. 2007. Optimization of encoding specificity for the diagnosis of early AD: The RI-48 task, *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 29, 477-487.
- Agosta F, Pievani M, Geroldi C, Copetti M, Frisoni GB, Filippi M. 2012. Resting state fMRI in Alzheimer's disease: beyond the default mode network. *Neurobiology of Aging*, 33, 1564-1578.
- Ahmed S, Arnold R, Thompson SA, Graham KS, Hodges JR. 2008. Naming of objects, faces and buildings in mild cognitive impairment. *Cortex*, 44, 746-752.
- Albert M, Blacker D, Moss MB, Tanzi R, McArdle JJ. 2007. Longitudinal change in cognitive performance among individuals with mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 21, 158-169.
- Albert MS, Moss MB, Tanzi R, Jones K. 2001. Preclinical prediction of AD using neuropsychological tests. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 7, 631-639.
- Alexopoulos GS, Jeste DV, Chung H, Carpenter D, Ross R, Docherty JP. 2005. The expert consensus guideline series. Treatment of dementia and its behavioral disturbances. Introduction: methods, commentary, and summary. *Postgraduate Medicine*, 6-22.
- Alves GS, O'Dwyer L, Jurcoane A, Oertel-Knöchel V, Knöchel C, Prvulovic D, *et al.* 2012. Different patterns of white matter degeneration using multiple diffusion indices and volumetric data in mild cognitive impairment and Alzheimer patients. *PLoS One*, 7, e52859.
- Alzheimer A. 1907. Ueber eine eigenartige erkrankung der hirnrinde. *Zeitschrift für die Gesamte Neurologie Psychiatrie*, 18, 177-179.
- Amaral DG, Insausti R, Vowan WM. 1987. The entorhinal cortex of the monkey: I. Cytoarchitectonic organization. *Journal of Comparative Neurology*, 264, 326-355.
- Amieva H, Le Goff M, Millet X, Orgogozo JM, Pérès K, Barberger-Gateau P, *et al.* 2008. Prodromal Alzheimer's disease: successive emergence of the clinical symptoms. *Annals of Neurology*, 64, 492-498.
- Amunts K, Kedo O, Kindler M, Pieperhoff P, Mohlberg H, Shah NJ, *et al.* 2005. Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anatomy and Embryology*, 210, 343-52.
- Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, *et al.* 2001. Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Archives of Neurology*, 58, 373-379.

- Andrews-Hanna JR, Reidler JS, Huang C, Buckner RL. 2010. Evidence for the default network's role in spontaneous cognition. *Journal of Neurophysiology*, 104, 322-335.
- Aggleton JP, Brown MW. 1999. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behavioral and Brain Sciences*, 22, 425-489.
- Apostolova LG, Dinov ID, Dutton RA, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, Thompson PM. 2006a. 3D comparison of hippocampal atrophy in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain*, 129, 2867-2873.
- Apostolova LG, Dutton RA, Dinov ID, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, Thompson PM. 2006b. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Archives of Neurology*, 63, 693-699.
- Apostolova LG, Morra JH, Green AE, Hwang KS, Avedissian C, Woo E, *et al.* 2010. Automated 3D mapping of baseline and 12-month associations between three verbal memory measures and hippocampal atrophy in 490 ADNI subjects. *Neuroimage*, 51, 488-499.
- Apostolova LG, Steiner CA, Akopyan GG, Dutton RA, Hayashi KM, Toga AW, *et al.* 2007. Three-dimensional gray matter atrophy mapping in mild cognitive impairment and mild Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 64, 1489-1495.
- Arbizu J, Prieto E, Martínez-Lage P, Martí-Clement JM, García-Granero M, Lamet I, *et al.* 2013. Automated analysis of FDG PET as a tool for single-subject probabilistic prediction and detection of Alzheimer's disease dementia. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40, 1394-1405.
- Arriagada PV, Growden JH, Hedley-Whyte ET, Hyman B. 1992. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology*, 42, 631-639.
- Ashburner J. 2007. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage*, 38, 95-113.
- Ashburner J, Andersson J, Friston K. 2000. Image registration using a symmetric prior-in three dimensions. *Human Brain Mapping*, 9, 212-225.
- Ashburner J, Friston KJ. 2005. Unified segmentation. *Neuroimage*, 26, 839-851.
- Atienza M, Crespo-Garcia M, Cantero JL. 2011. Semantic congruence enhances memory of episodic associations: role of theta oscillations. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 23, 75-90.
- Axmacher N, Schmitz DP, Wagner T, Elger CE, Fell J. 2008a. Interactions between medial temporal lobe, prefrontal cortex, and inferior temporal regions during visual working memory: a combined intracranial EEG and functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*, 28, 7304-7312.
- Axmacher N, Schmitz DP, Weinreich I, Elger CE, Fell J. 2008b. Interaction of working memory and long-term memory in the medial temporal lobe. *Cerebral Cortex*, 18, 2868-2878.

- Baddeley A, 2000. The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends in Cognitive Sciences*, 4, 417-423.
- Baddeley A, Vargha-Khadem F, Mishkin M. 2001. Preserved recognition in a case of developmental amnesia: implications for the acquisition of semantic memory? *Journal of Cognitive Neuroscience*, 13, 357–369.
- Barbeau EJ, Ranjeva JP, Didic M, Confort-Gouny S, Felician O, Soulier E, *et al.* 2008. Profile of memory impairment and gray matter loss in amnesic mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 46, 1009-1019.
- Barnes J, Bartlett JW, van de Pol LA, Loy CT, Scahill RI, Frost C, *et al.* 2009. A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 30, 1711-1723.
- Barnes DE, Yaffe K. 2011. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurology*, 10, 819-828.
- Bartsch T, Deuschl G. 2010. Transient global amnesia: functional anatomy and clinical implications. *Lancet Neurology*, 9, 205-214.
- Bartzokis G. 2004. Age-related myelin breakdown: a developmental model of cognitive decline and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 25, 5-18
- Bartzokis G, Lu PH, Geschwind DH, Edwards N, Mintz J, Cummings JL. 2006. Apolipoprotein E genotype and age-related myelin breakdown in healthy individuals: implications for cognitive decline and dementia. *Archives of General Psychiatry*, 63, 63-72.
- Beauchamp MH, Thompson DK, Howard K, Doyle LW, Egan GF, Inder TE, Anderson PJ. 2008. Preterm infant hippocampal volumes correlate with later working memory deficits. *Brain*, 131, 2986-2994.
- Becker JT, Davis SW, Hayashi KM, Meltzer CC, Toga AW, Lopez OL, *et al.* 2006. Three-dimensional patterns of hippocampal atrophy in mild cognitive impairment. *Archives of Neurology*, 63, 97-101.
- Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. 2010. Genetics of Alzheimer disease. *Journal of Geriatric, Psychiatry and Neurology*, 23, 213-227.
- Bellgowan PSF, Buffalo EA, Bodurka, J, Martin A. 2009. Lateralized spatial and object memory encoding in entorhinal and perirhinal cortices. *Learning & Memory*, 16, 433-438.
- Belleville S, Chatelais J, Fontaine F, Peretz I. 2002. Memoria: Batterie informatisée d'évaluation de la mémoire pour Mac et PC. Institut Universitaire de Gériatrie de Montreal, Montreal.
- Belleville S, Sylvain-Roy S, de Boysson C, Menard MC. 2008. Characterizing the memory changes in persons with mild cognitive impairment. *Progress in Brain Research*, 169, 365-375.

- Berlingeri M, Bottini G, Basilico S, Silani G, Zanardi G, Sberna M, *et al.* 2008. Anatomy of the episodic buffer: a voxel-based morphometry study in patients with dementia. *Behavioural Neurology*, 19, 29-34.
- Blennow K, Hampel H. 2003. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurology*, 2, 605-613.
- Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H. 2001. CSF total tau, Abeta42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, 24, 87-97.
- Blom K, Emmelot-Vonk MH, Koek HL. 2013. The influence of vascular risk factors on cognitive decline in patients with dementia: A systematic review. *Maturitas*, 76, 113-117.
- Blumenfeld RS, Ranganath C. 2007. Prefrontal cortex and long-term memory encoding: an integrative review of findings from neuropsychology and neuroimaging. *Neuroscientist*, 13, 280-291.
- Bobinski M, Wegiel J, Tarnawski M, Bobinski M, Reisberg B, de Leon MJ, *et al.* 1997. Relationships between regional neuronal loss and neurofibrillary changes in the hippocampal formation and duration and severity of Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 56, 414-420.
- Bobinski M, Wegiel J, Wisniewski HM, Tarnawski M, Reisberg B, Mlodzik B, *et al.* 1995. Atrophy of hippocampal formation subdivisions correlates with stage and duration of Alzheimer disease. *Dementia*, 6, 205-210.
- Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernandez G, Sol JM, Blesa R. NORMACODEN Group. 1998. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities. *International Psychogeriatrics*, 10, 261-270.
- Bouras C, Hof PR, Giannakopoulos P, Michel JP, Morrison JH. 1994. Regional distribution of neurofibrillary tangles and senile plaques in the cerebral cortex of elderly patients: a quantitative evaluation of a one-year autopsy population from a geriatric hospital. *Cerebral Cortex*, 4, 138-150.
- Bozzali M, Filippi M, Magnani G, Cercignani M, Franceschi M, Schiatti E, *et al.* 2006. The contribution of voxel-based morphometry in staging patients with mild cognitive impairment. *Neurology*, 67, 453-460.
- Bozzali M, Parker GJ, Serra L, Embleton K, Gili T, Perri R, *et al.* 2011. Anatomical connectivity mapping: a new tool to assess brain disconnection in Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 54, 2045-2051.
- Braak H, Braak E. 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*, 82, 239-259.

- Braak H, Braak E. 1995. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiology of Aging*, 16, 271-278.
- Braak H, Braak E. 1997. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiology of Aging*, 18, 351-357.
- Braak H, del Tredici K. 2011. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathologica*, 121, 171-181.
- Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, del Tredici K. 2011. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *Journal of Neuro pathology and Experimental Neurology*, 70, 960-969.
- Brainerd CJ, Reyna VF, Petersen RC, Smith GE, Kenney AE, Gross CJ, *et al.* 2013. The apolipoprotein E genotype predicts longitudinal transitions to mild cognitive impairment but not to Alzheimer's dementia: findings from a nationally representative study. *Neuropsychology*, 27, 86-94.
- Brainerd CJ, Reyna VF, Petersen RC, Smith GE, Taub ES. 2011. Is the Apolipoprotein E genotype a biomarker for mild cognitive impairment? Findings from a nationally representative study. *Neuropsychology*, 25, 679-689.
- Brodsky H, Heffernan M, Kochan NA, Draper B, Trollor JN, Reppermund S, *et al.* 2013. Mild cognitive impairment in a community sample: the Sydney Memory and Ageing Study. *Alzheimers & Dementia*, 9, 310-317.
- Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. 2007. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 3, 186-191.
- Brück A, Virta JR, Koivunen J, Koikkalainen J, Scheinin NM, Helenius H, *et al.* 2013. [(11)C]PIB, [(18)F]FDG and MR imaging in patients with mild cognitive impairment. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40, 1567-1572.
- Brun A, Englund E. 1986. A white matter disorder in dementia of the Alzheimer type: a pathoanatomical study. *Annals of Neurology*, 19, 253-262.
- Brys M, Glodzik L, Mosconi L, Switalski R, De Santi S, Pirraglia E, *et al.* 2009. Magnetic resonance imaging improves cerebrospinal fluid biomarkers in the early detection of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16, 351-362.
- Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O. 2012. Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Archives of General Psychiatry*, 69, 98-106.
- Buckmaster CA, Eichenbaum H, Amaral DG, Suzuki WA, Rapp PR. 2004. Entorhinal cortex lesions disrupt the relational organization of memory in monkeys. *Journal of Neuroscience*, 24, 9811-9825.

- Buckner RL, Sepulcre J, Talukdar T, Krienen FM, Liu H, Hedden T, *et al.* 2009. Cortical hubs revealed by intrinsic functional connectivity: mapping, assessment of stability, and relation to Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 29, 1860-1873.
- Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, *et al.* 2005. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *Journal of Neuroscience*, 25, 7709-7717.
- Burggren AC, Renner B, Jones M, Donix M, Suthana NA, Martin-Harris L, *et al.* 2011. Thickness in entorhinal and subicular cortex predicts episodic memory decline in mild cognitive impairment. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, 1-9.
- Burns AS, Zaudig M. 2002. Mild cognitive impairment in older people. *Lancet*, 360, 1963-1965.
- Busse A, Hensel A, Gühne U, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. 2006. Mild cognitive impairment: long-term course of four clinical subtypes. *Neurology*, 67, 2176-2185.
- Cairns NJ, Chadwick A, Luthert PJ, Lantos PL. 1992. Astrocytosis, beta A4-protein deposition and paired helical filament formation in Alzheimer's disease. *Journal of Neurological Sciences*, 112, 68-75.
- Cardenas VA, Chao LL, Studholme C, Yaffe K, Miller BL, Madison C, *et al.* 2011. Brain atrophy associated with baseline and longitudinal measures of cognition. *Neurobiology of Aging*, 32, 572-580.
- Carlesimo GA, Perri R, Caltagirone C. 2011. Category cued recall following controlled encoding as a neuropsychological tool in the diagnosis of Alzheimer's disease: a review of the evidence. *Neuropsychology Review*, 21, 54-65.
- Carr VA, Engel SA, Knowlton BJ. 2013. Top-down modulation of hippocampal encoding activity as measured by high-resolution functional MRI. *Neuropsychologia*, 51, 1829-1837.
- Carr VA, Rissman J, Wagner AD. 2010. Imaging the human medial temporal lobe with high-resolution fMRI. *Neuron*, 65, 298-308.
- Caselli RJ, Dueck AC, Osborne D, Sabbagh MN, Connor DJ, Ahern GL, *et al.* 2009. Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE epsilon4 effect. *New England Journal of Medicine*, 361, 255-263.
- Casserly I, Topol E. 2004. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet*, 363, 1139-1146.
- Chen P, Ratcliff G, Belle SH, Cauley JA, DeKosky ST, Ganguli M. 2001. Patterns of cognitive decline in presymptomatic Alzheimer disease: A prospective community study. *Archives of General Psychiatry*, 58, 853-858.

Chertkow H, Bub D. 1990. Semantic memory loss in dementia of Alzheimer's type. What do various measures measure? *Brain*, 113, 397-417.

Chételat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Berkouk K, Landeau B, *et al.* 2003. Dissociating atrophy and hypometabolism impact on episodic memory in mild cognitive impairment. *Brain*, 126, 1955-1967.

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

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

Choo IH, Ni R, Schöll M, Wall A, Almkvist O, Nordberg A. 2013. Combination of (18)F-FDG PET and cerebrospinal fluid biomarkers as a better predictor of the progression to Alzheimer's disease in mild cognitive impairment patients. *Journal of Alzheimer's Disease*, 33, 929-939.

Chua TC, Wen W, Slavin MJ, Sachdev PS. 2008. Diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a review. *Current Opinion in Neurology*, 21, 83-92.

Collie A, Maruff P. 2000. The neuropsychology of preclinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 365-374.

Collins DL, Neelin P, Peters TM, Evans AC. 1994. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *Journal of computer assisted tomography*, 18, 192-205.

Colliot O, Chételat G, Chupin M, Desgranges B, Magnin B, Benali H, *et al.* 2008. Discrimination between Alzheimer disease, mild cognitive impairment, and normal aging by using automated segmentation of the hippocampus. *Radiology*, 248, 194-201.

Convit A, De Leon MJ, Tarshish C, De Santi S, Tsui W, Rusinek H, George A. 1997. Specific hippocampal volume reductions in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 18, 131-138.

Copenhaver BR, Rabin LA, Saykin AJ, Roth RM, Wishart HA, Flashman LA, *et al.* 2006. The fornix and mammillary bodies in older adults with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and cognitive complaints: A volumetric MRI study. *Psychiatry Research*, 147, 93-103.

Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, *et al.* 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261, 921-923.

- Coria F, Castaño EM, Frangione B. 1987. Brain amyloid in normal aging and cerebral amyloid angiopathy is antigenically related to Alzheimer's disease beta-protein. *American Journal of Pathology*, 129, 422-428.
- Cosentino S, Scarmeas N, Helzner E, Glymour MM, Brandt J, Albert M, *et al.* 2008. APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. *Neurology*, 70, 1842-1849.
- Craik FIM, Byrd M. 1982. Aging and cognitive deficits: The role of attentional resources. In F. I. M. Craik & S. E. Trehub (Eds.), *Aging and cognitive processes*. New York: Plenum.
- Craik FIM, Tulving E. 1975. Depth of processing and the retention of words in episodic memory. *Journal of Experimental Psychology. General*, 104, 268-294.
- Crespo-Garcia M, Cantero JL, Atienza M. 2012. Effects of semantic relatedness on age-related associative memory deficits: the role of theta oscillations. *Neuroimage*, 61, 1235-1248.
- Crespo-Garcia M, Cantero JL, Pomyalov A, Boccaletti S, Atienza M. 2010. Functional neural networks underlying semantic encoding of associative memories. *Neuroimage*, 50, 1258-1270.
- Crystal H, Dickenson D, Fuld P, Masur D, Scott R, Mehler M, *et al.* 1988. Clinico-pathological studies in dementia: nondemented subjects with pathologically confirmed Alzheimer's disease. *Neurology*, 38, 1682-1687.
- Csernansky JG, Wang L, Joshi S, Miller JP, Gado M, Kido D, *et al.* 2000. Early DAT is distinguished from aging by high-dimensional mapping of the hippocampus. *Dementia of the Alzheimer type. Neurology*, 55, 1636-1643.
- Cummings JL. 2003. Toward a molecular neuropsychiatry of neurodegenerative diseases. *Annals of Neurology*, 54, 147-154.
- Cummings JL, Mackell J, Kaufer D. 2008. Behavioral effects of current Alzheimer's disease treatments: a descriptive review. *Alzheimer's & Dementia*, 4, 49-60.
- Cutler SJ, Grams AE. 1988. Correlates of self-reported everyday memory problems. *Journal of Gerontology*, 43, S82-S90.
- Damoiseaux JS, Prater KE, Miller BL, Greicius MD. 2012. Functional connectivity tracks clinical deterioration in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33, 828.e19-30.
- Daum I, Riesch G, Sartori G, Birbaumer N. 1996. Semantic memory impairment in Alzheimer's disease. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 18, 648-665.
- Davachi L, Wagner AD. 2002. Hippocampal contributions to episodic encoding: insights from relational and item-based learning. *Journal of Neurophysiology*, 88, 982-990.
- de la Torre JC. 2002. Vascular basis of Alzheimer's pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 977, 196-215.

- de Leon MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, DeSanti S, Rusinek H, *et al.* 2001. Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[(18)F]fluoro-2-deoxy-D-glucose/positron emission tomography (FDG/PET). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 10966-10971.
- de Leon MJ, Mosconi L, Blennow K, DeSanti S, Zinkowski R, Mehta PD, *et al.* 2007. Imaging and CSF studies in the preclinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1097, 114-145.
- de Pedro-Cuesta J, Virués-Ortega J, Vega S, Seijo-Martínez M, Saz P, Rodríguez F, *et al.* 2009. Prevalence of dementia and major dementia subtypes in Spanish populations: a reanalysis of dementia prevalence surveys, 1990-2008. *BMC Neurology*, 9, 55.
- DeCarli C. 2003. Mild cognitive impairment: prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neurology*, 2, 15-21.
- DeKosky ST, Harbaugh RE, Schmitt FA, Bakay RA, Chui HC, Knopman DS, *et al.* 1992. Cortical biopsy in Alzheimer's disease: diagnostic accuracy and neurochemical, neuropathological and cognitive correlations. *Annals of Neurology*, 32, 625-632.
- Delano-Wood L, Stricker NH, Sorg SF, Nation DA, Jak AJ, Woods SP, *et al.* 2012. Posterior cingulum white matter disruption and its associations with verbal memory and stroke risk in mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 29, 589-603.
- Demarin V, Zavoreo I, Kes VB, Simundić AM. 2011. Biomarkers in Alzheimer's disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 49, 773-778.
- Deppe M, Duning T, Mohammadi S, Schwindt W, Kugel H, Knecht S, Ringelstein EB. 2007. Diffusion-tensor imaging at 3 T: detection of white matter alterations in neurological patients on the basis of normal values. *Investigative Radiology*, 42, 338-345.
- deToledo-Morrell L, Dickerson B, Sullivan MP, Spanovic C, Wilson R, Bennett DA. 2000a. Hemispheric differences in hippocampal volume predict verbal and spatial memory performance in patients with Alzheimer's disease. *Hippocampus*, 10, 136-142.
- deToledo-Morrell L, Goncharova I, Dickerson B, Wilson RS, Bennett DA. 2000b. From healthy aging to early Alzheimer's disease: in vivo detection of entorhinal cortex atrophy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911, 240-253.
- deToledo-Morrell L, Stoub TR, Bulgakova M, Wilson RS, Bennett DA, Leurgans S, *et al.* 2004. MRI-derived entorhinal volume is a good predictor of conversion from MCI to AD. *Neurobiology of Aging*, 25, 1197-1203.
- deToledo-Morrell L, Stoub TR, Wang C. 2007. Hippocampal atrophy and disconnection in incipient and mild Alzheimer's disease. *Progress in Brain Research*, 163, 741-753.

- Devanand DP, Pradhaban G, Liu X, Khandji A, de Santi S, Segal S, *et al.* 2007. Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: prediction of Alzheimer disease. *Neurology*, 68, 828-836.
- Di Paola M, Macaluso E, Carlesimo GA, Tomaiuolo F, Worsley KJ, Fadda L, *et al.* 2007. Episodic memory impairment in patients with Alzheimer's disease is correlated with entorhinal cortex atrophy: a voxel-based morphometry study. *Journal of Neurology*, 254, 774-781.
- Dickerson BC, Goncharova I, Sullivan MP, Forchetti C, Wilson RS, Bennett DA, *et al.* 2001. MRI-derived entorhinal and hippocampal atrophy in incipient and very mild Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 22, 747-754.
- Dickerson BC, Salat DH, Greve DN, Chua EF, Rand-Giovannetti E, Rentz DM, *et al.* 2005. Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology*, 65, 404-411.
- Dimitra S, Verganelakis DA, Gotsis E, Toulas P, Papatriantafillou J, Karageorgiou C, *et al.* 2013. Diffusion tensor imaging (DTI) in the detection of white matter lesions in patients with mild cognitive impairment (MCI). *Acta Neurologica Belgica*.
- Douaud G, Menke RA, Gass A, Monsch AU, Rao A, Whitcher B, *et al.* 2013. Brain microstructure reveals early abnormalities more than two years prior to clinical progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 33, 2147-2155.
- Drago V, Babiloni C, Bartrés-Faz D, Caroli A, Bosch B, Hensch T, *et al.* 2011. Disease tracking markers for Alzheimer's disease at the prodromal (MCI) stage. *Journal of Alzheimer's Disease*, 26 [Suppl 3], 159-199.
- Du AT, Schuff N, Amend D, Laakso MP, Hsu YY, Jagust WJ, *et al.* 2001. Magnetic resonance imaging of the entorhinal cortex and hippocampus in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 71, 441-447.
- Du AT, Schuff N, Kramer JH, Rosen HJ, Gorno-Tempini ML, Rankin K, *et al.* 2007. Different regional patterns of cortical thinning in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Brain*, 130, 1159-1166.
- Du AT, Schuff N, Zhu XP, Jagust WJ, Miller BL, Reed BR, *et al.* 2003. Atrophy rates of entorhinal cortex in AD and normal aging. *Neurology*, 60, 481-486.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, *et al.* 2007. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurology*, 6, 734-46.
- Dudas RB, Clague F, Thompson SA, Graham KS, Hodges JR. 2005. Episodic and semantic memory in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 43, 1266-1276.

Duning T, Warnecke T, Mohammadi S, Lohmann H, Schiffbauer H, Kugel H, *et al.* 2009. Pattern and progression of white-matter changes in a case of posterior cortical atrophy using diffusion tensor imaging. *Journal Of Neurology, Neurosurgery, And Psychiatry*, 80, 432-436.

Duong A, Whitehead V, Hanratty K, Chertkow H. 2006. The nature of lexico-semantic processing deficits in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 44, 1928-1935.

Eichenbaum H. 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews. Neuroscience*, 1, 41-50.

Eichenbaum H, Cohen NJ. 2001. *From conditioning to conscious recollection: memory systems of the brain.* USA: Oxford University Press.

Eichenbaum H, Lipton PA. 2008. Towards a functional organization of the medial temporal lobe memory system: Role of the parahippocampal and medial entorhinal cortical areas. *Hippocampus*, 18, 1314-1324.

Eickhoff SB, Heim S, Zilles K, Amunts K. 2006. Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps. *Neuroimage*, 32, 570-582.

Eickhoff SB, Stephan KE, Mohlberg H, Grefkes C, Fink GR, Amunts K, *et al.* 2005. A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage*, 25, 1325-1335.

Elias-Sonnenschein LS, Viechtbauer W, Ramakers IH, Verhey FR, Visser PJ. 2011. Predictive value of APOE- ϵ 4 allele for progression from MCI to AD-type dementia: a meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 82, 1149-1156.

Erten-Lyons D, Howieson D, Moore MM, Quinn J, Sexton G, Silbert L, *et al.* 2006. Brain volume loss in MCI predicts dementia. *Neurology*, 66, 233-235.

Eskildsen SF, Coupé P, García-Lorenzo D, Fonov V, Pruessner JC, Collins DL; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2013. Prediction of Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment from the ADNI cohort using patterns of cortical thinning. *Neuroimage*, 65, 511-521.

Espinosa A, Alegret M, Valero S, Vinyes-Junqué G, Hernández I, Mauleón A, *et al.* 2013. A longitudinal follow-up of 550 mild cognitive impairment patients: evidence for large conversion to dementia rates and detection of major risk factors involved. *Journal of Alzheimer's Disease*, 34, 769-780.

Estévez-González A, García-Sánchez C, Boltes A, Otermín P, Pascual-Sedano B, Gironell A, Kulisevsky J. 2004. Semantic knowledge of famous people in mild cognitive impairment and progression to Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 17, 188-195.

- Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, *et al.* 2006. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Annals of Neurology*, 59, 512-519.
- 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. *The American Journal of Roentgenology, Radium Therapy, and Nuclear Medicine*, 149, 351-356.
- Fellgiebel A, Müller 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. *Neurobiology of Aging*, 26, 1193-1198.
- Fellgiebel A, Yakushev I. 2011. Diffusion tensor imaging of the hippocampus in MCI and early Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 26[Suppl.3], 257-262.
- Ferencz B, Laukka EJ, Lövdén M, Kalpouzos G, Keller L, Graff C, *et al.* 2013. The influence of APOE and TOMM40 polymorphisms on hippocampal volume and episodic memory in old age. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, 198.
- Fernandez G, Tendolkar I. 2006. The rhinal cortex: "gatekeeper" of the declarative memory system. *Trends in Cognitive Sciences*, 10, 358-362.
- Ferreira LK, Diniz BS, Forlenza OV, Busatto GF, Zanetti MV. 2011. Neurostructural predictors of Alzheimer's disease: a meta-analysis of VBM studies. *Neurobiology of Aging*, 32, 1733-1741.
- Fischer P, Jungwirth S, Zehetmayer S, Weissgram S, Hoenigschnabl S, Gelpi E, *et al.* 2007. Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology*, 68, 288-291.
- Fischl B, Dale AM. 2000. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 11050-11055.
- Fjell AM, Walhovd KB, Amlien I, Bjørnerud A, Reinvang I, Gjerstad L, *et al.* 2008. Morphometric changes in the episodic memory network and tau pathologic features correlate with memory performance in patients with mild cognitive impairment. *American Journal of Neuroradiology*, 29, 1183-1189.
- Fouquet M, Desgranges B, La Joie R, Rivière D, Mangin JF, Landeau B, *et al.* 2012. Role of hippocampal CA1 atrophy in memory encoding deficits in amnesic Mild Cognitive Impairment. *Neuroimage*, 59, 3309-3315.
- Frankland PW, Bontempi B. 2006. Fast track to the medial prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 509-510.

- Frisoni GB, Ganzola R, Canu E, Rüb U, Pizzini FB, Alessandrini F, *et al.* 2008. Mapping local hippocampal changes in Alzheimer's disease and normal ageing with MRI at 3Tesla. *Brain*, 131, 3266-3276.
- Gaffan D. 2001. What is a memory system? Horel's critique revisited. *Behavioural Brain Research*, 127, 5-11.
- Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, *et al.* 1998. High cerebrospinal fluid tau and low amyloid beta42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. *Archives of Neurology*, 55, 937-945.
- Galluzzi S, Geroldi C, Amicucci G, Bocchio-Chiavetto L, Bonetti M, Bonvicini C, *et al.* 2013. Supporting evidence for using biomarkers in the diagnosis of MCI due to AD. *Journal of Neurology*, 260, 640-650.
- Ganguli M. 2006. Mild cognitive impairment and the 7 uses of epidemiology. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 20, S52-S57.
- Garibotto V, Borroni B, Agosti C, Premi E, Alberici A, Eickhoff SB, *et al.* 2011. Subcortical and deep cortical atrophy in frontotemporal lobar degeneration. *Neurobiology of Aging*, 32, 875-884.
- Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, *et al.* 2006. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Archives of General Psychiatry*, 63, 168-174.
- Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, *et al.* 2006. Mild cognitive impairment. International Psychogeriatric Association Expert Conference. *Lancet*, 367, 1262-1270.
- Gazzaley A, Cooney JW, McEvoy K, Knight RT, D'Esposito M. 2005. Top-down enhancement and suppression of the magnitude and speed of neural activity. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 17, 507-517.
- Georges J, Jansen S, Jackson J, Meyrieux A, Sadowska A, Selmes M. 2008. Alzheimer's disease in real life--the dementia carer's survey. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23, 546-551.
- Glisky EL, Rubin SR, Davidson PS. 2001. Source memory in older adults: an encoding or retrieval problem? *Journal of Experimental Psychology. Learning, Memory, and Cognition*, 27, 1131-1146.
- Gold BT, Johnson NF, Powell DK, Smith CD. 2012. White matter integrity and vulnerability to Alzheimer's disease: preliminary findings and future directions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1822, 416-422.
- Gomar JJ, Bobes-Bascaran MT, Conejero-Goldber C, Davies P, Goldberg TE. 2011. Utility of combinations of biomarkers, cognitive markers, and risk factors to predict conversion from mild

cognitive impairment to Alzheimer disease in patients in the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Archives of General Psychiatry*, 68, 961-969.

Gómez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. 1996. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 16, 4491-4500.

Goshen I, Brodsky M, Prakash R, Wallace J, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K. 2011. Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell*, 147, 678-689.

Greene JD, Hodges JR. 1996. The fractionation of remote memory. Evidence from a longitudinal study of dementia of Alzheimer type. *Brain*, 119, 129-142.

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

Grober E, Lipton RB, Hall C, Crystal H. 2000. Memory impairment on free and cued selective reminding predicts dementia. *Neurology*, 54, 827-832.

Grothe M, Zaborszky L, Atienza M, Gil-Neciga E, Rodriguez-Romero R, Teipel SJ, *et al.* 2010. Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cerebral Cortex*, 20, 1685-1695.

Grundman M, Jack CR Jr, Petersen RC, Kim HT, Taylor C, Datvian M, *et al.* 2003. Hippocampal volume is associated with memory but not non-memory cognitive performance in patients with mild cognitive impairment. *Journal of Molecular Neuroscience*, 20, 241-248.

Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC, Mesulam MM. 2003. Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Archives of Neurology*, 60, 729-736.

Hämäläinen A, Pihlajamäki M, Tanila H, Hänninen T, Niskanen E, Tervo S, *et al.* 2007. Increased fMRI responses during encoding in mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, 28, 1889-1903.

Han JW, Kim TH, Lee SB, Park JH, Lee JJ, Huh Y, *et al.* 2012. Predictive validity and diagnostic stability of mild cognitive impairment subtypes. *Alzheimer's & Dementia*, 8, 553-559.

Hannula DE, Ranganath C. 2008. Medial temporal lobe activity predicts successful relational memory binding. *Journal of Neuroscience*, 28, 116-124.

Hanseeuw B, Dricot L, Kavec M, Grandin C, Seron X, Ivanoiu A. 2011. Associative encoding deficits in amnesic mild cognitive impairment: a volumetric and functional MRI study. *Neuroimage*, 56, 1743-1748.

- Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. 2006. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurology*, 5, 228-234.
- Hardy J, Allsop D. 1991. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 12, 383-388.
- Hardy J, Selkoe DJ. 2009. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297, 353-356.
- Haroutunian V, Hoffman LB, Beeri MS. 2009. Is there a neuropathology difference between mild cognitive impairment and dementia? *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11, 171-179.
- Hashimoto T, Serrano-Pozo A, Hori Y, Adams KW, Takeda S, Banerji AO, *et al.* 2012. Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid β peptide. *Journal of Neuroscience*, 32, 15181-15192.
- Hatashita S, Yamasaki H. 2013. Diagnosed mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease with PET biomarkers of beta amyloid and neuronal dysfunction. *PLoS One*, 8, e66877.
- Hay JF, Jacoby LL. 1999. Separating habit and recollection in young and older adults: Effects of elaborative processing and distinctiveness. *Psychology and Aging*, 14, 122-134.
- Henke K, Mondadori CR, Treyer V, Nitsch RM, Buck A, Hock C. 2003a. Nonconscious formation and reactivation of semantic associations by way of the medial temporal lobe. *Neuropsychologia*, 41, 863-876.
- Henke K, Treyer V, Nagy ET, Kneifel S, Dürsteler M, Nitsch RM, Buck A. 2003b. Active hippocampus during nonconscious memories. *Consciousness & Cognition*, 121, 31-48.
- Herukka SK, Hallikainen M, Soininen H, Pirttilä T. 2005. CSF Abeta42 and tau or phosphorylated tau and prediction of progressive mild cognitive impairment. *Neurology*, 64, 1294-1297.
- Hita-Yañez E, Atienza M, Cantero JL. 2013. Polysomnographic and subjective sleep markers of mild cognitive impairment. *Sleep*, 36, 1327-1334.
- Hita-Yañez E, Atienza M, Gil-Neciga E, Cantero JL. 2013. Disturbed sleep patterns in elders with mild cognitive impairment: the role of memory decline and ApoE ϵ 4 genotype. *Current Alzheimer Research*, 9, 290-297.
- Hodges JR, Patterson K. 1995. Is semantic memory consistently impaired early in the course of Alzheimer's disease? Neuroanatomical and diagnostic implications. *Neuropsychologia*, 33, 441-459.
- Hodges JR, Salmon DP, Butters N. 1992. Semantic memory impairment in Alzheimer's disease: failure of access or degraded knowledge? *Neuropsychologia*, 30, 301-314.

- Holtzman DM, Herz J, Bu G. 2012. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2, a006312.
- Hua X, Leow AD, Parikshak N, Lee S, Chiang MC, Toga AW, *et al.* 2008. Tensor-based morphometry as a neuroimaging biomarker for Alzheimer's disease: an MRI study of 676 AD, MCI, and normal subjects. *Neuroimage*, 43, 458-469.
- Hudon C, Belleville S, Souchay C, Gely-Nargeot MC, Chertkow H, Gauthier S. 2006. Memory for gist and detail information in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 20, 566-577.
- Hughes CP, Berg L, Danzler WL. 1982. A new clinical scale for the staging of dementia. *British Journal of Psychiatry*, 140, 566-572.
- Huntley JD, Howard RJ. 2010. Working memory in early Alzheimer's disease: a neuropsychological review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 25, 121-132.
- Hyman BT, Van Hoesen GW, Damasio AR, Barnes CL. 1984. Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 225, 1168-1170.
- Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso Adel C, Grundke-Iqbal I. 2009. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathologica*, 118, 53-69.
- Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, *et al.* 2001. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 50, 150-156.
- Jack CR Jr, Lowe VJ, Senjem ML, Weigand SD, Kemp BJ, Shiung MM, 2008. 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, 131, 665-680.
- Jennings JM, Jacoby LL. 1993. Automatic versus intentional uses of memory: Aging, attention, and control. *Psychology and Aging*, 8, 283-293.
- Jennings JM, Jacoby LL. 1997. An opposition procedure for detecting age-related deficits in recollection: Telling effects of repetition. *Psychology and Aging*, 12, 352-361.
- Jhoo JH, Lee DY, Choo IH, Seo EH, Oh JS, Lee JS, *et al.* 2010. Discrimination of normal aging, MCI and AD with multimodal imaging measures on the medial temporal lobe. *Psychiatry Research*, 183, 237-243.
- Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. 2000. Statins and the risk of dementia. *Lancet*, 356, 1627-1631.

- Jin M, Pelak VS, Cordes D. 2012. Aberrant default mode network in subjects with amnesic mild cognitive impairment using resting-state functional MRI. *Magnetic Resonance Imaging*, 30, 48-61.
- Joubert S, Felician O, Barbeau EJ, Didic M, Poncet M, Ceccaldi M. 2008. Patterns of semantic memory impairment in Mild Cognitive Impairment. *Behavioural Neurology*, 19, 35-40.
- Joubert S, Brambati SM, Ansado J, Barbeau EJ, Felician O, Didic M, *et al.* 2010. The cognitive and neural expression of semantic memory impairment in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 48, 978-988.
- Jungwirth S, Weissgram S, Zehetmayer S, Tragl KH, Fischer P. 2005. VITA: subtypes of mild cognitive impairment in a community-based cohort at the age of 75 years. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 20, 452-458.
- Kalus P, Slotboom J, Gallinat J, Mahlberg R, Cattapan-Ludewig K, Wiest R, *et al.* 2006. Examining the gateway to the limbic system with diffusion tensor imaging: the perforant pathway in dementia. *Neuroimage*, 30, 713-720.
- Kapur N, Crewes H, Wise R, Abbott P, Carter M, Millar J, Lang D. 1998. Mammillary body damage results in memory impairment but not amnesia. *Neurocase*, 4, 509-517.
- Kennedy KM, Rodrigue KM, Devous MD Sr, Hebrank AC, Bischof GN, Park DC. 2012. Effects of beta-amyloid accumulation on neural function during encoding across the adult lifespan. *Neuroimage*, 62, 1-8.
- Kilb A, Naveh-Benjamin M. 2011. The effects of pure pair repetition on younger and older adults' associative memory. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 37, 706-719.
- Killiany RJ, Hyman BT, Gómez-Isla T, Moss MB, Kikinis R, Jolesz F, *et al.* 2002. MRI measures of entorhinal cortex vs hippocampus in preclinical AD. *Neurology*, 58, 1188-1196.
- Kim J, Basak JM, Holtzman DM. 2009. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*, 63, 287-303.
- Kinkingnehun S, Sarazin M, Lehericy S, Guichart-Gomez E, Hergueta T, Dubois B. 2008. VBM anticipates the rate of progression of Alzheimer disease: a 3-year longitudinal study. *Neurology*, 70, 2201-2211.
- Kirwan BC, Stark CEL. 2004. Medial temporal lobe activation during encoding and retrieval of novel face-name pairs. *Hippocampus*, 14, 910-930.
- Klein A, Andersson J, Ardekani BA, Ashburner J, Avants B, Chiang MC, *et al.* 2009. Evaluation of 14 nonlinear deformation algorithms applied to human brain MRI registration. *Neuroimage*, 46, 786-802.

- Köhler S, Black SE, Sinden M, Szekely C, Kidron D, Parker JL, *et al.* 1998. Memory impairments associated with hippocampal versus parahippocampal gyrus atrophy: an MRI volumetric study in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 36, 901-914.
- Konkel A, Cohen NJ. 2009. Relational memory and the hippocampus: representations and methods. *Frontiers in Neuroscience*, 3, 166-174.
- Kordower JH, Chu Y, Stebbins GT, DeKosky ST, Cochran EJ, Bennett D, Mufson EJ. 2001. Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Annals of Neurology*, 49, 202-213.
- La Joie R, Fouquet M, Mézenge F, Landeau B, Villain N, Mevel K, *et al.* 2010. Differential effect of age on hippocampal subfields assessed using a new high-resolution 3T MR sequence. *Neuroimage*, 53, 506-514.
- La Rue A. 1992. Aging and neuropsychological assessment. New York/London: Plenum Press.
- Laurienti PJ, Kraft RA, Maldjian JA, Burdette JH, Wallace MT. 2004. Semantic congruence is a critical factor in multisensory behavioral performance. *Experimental Brain Research*, 158, 405-414.
- Lee DY, Fletcher E, Carmichael OT, Singh B, Mungas D, Reed B, *et al.* 2012. Sub-Regional Hippocampal Injury is Associated with Fornix Degeneration in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 4, 1.
- Lehmann S, Murray MM. 2005. The role of multisensory memories in unisensory object discrimination. *Brain Research. Cognitive Brain Research*, 24, 326-334.
- Leow AD, Yanovsky I, Chiang MC, Lee AD, Klunder AD, Lu A, *et al.* 2007. Statistical properties of Jacobian maps and inverse-consistent deformations in non-linear image registration. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 26, 822-832.
- Lepage M, Habib R, Tulving E. 1998. Hippocampal PET activations of memory encoding and retrieval: the HIPER model. *Hippocampus*, 8, 313-322.
- Leube DT, Weis S, Freymann K, Erb M, Jessen F, Heun R, *et al.* 2008. Neural correlates of verbal episodic memory in patients with MCI and Alzheimer's disease — a VBM study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23, 1114-1118.
- Liang P, Wang Z, Yang Y, Li K. 2012. Three subsystems of the inferior parietal cortex are differently affected in mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 30, 475-487.
- Light LL, Patterson MM, Chung C, Healy MR. 2004. Effects of repetition and response deadline on associative recognition in Young and older adults. *Memory & Cognition*, 32, 1182-1193.

- Lindeboom J, Weinstein H. 2004. Neuropsychology of cognitive ageing, minimal cognitive impairment, Alzheimer's disease, and vascular cognitive impairment. *European Journal of Pharmacology*, 490, 83-86.
- Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hébert R, Helliwell B, Hill GB, McDowell I. 2002. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *American Journal of Epidemiology*, 156, 445-453.
- Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. 2013. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews. Neurology*, 9, 106-118.
- Lo CY, Wang PN, Chou KH, Wang J, He Y, Lin CP. 2010. Diffusion tensor tractography reveals abnormal topological organization in structural cortical networks in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 30, 16876-16885.
- Lobo A, Escoba V, Exquerra J, Sevar-Díaz A. 1979. Mini-Examen Cognoscitivo: Un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectuales en pacientes psiquiátricos. *Actas Luso-Españolas de Neurología, Psiquiatría y Ciencias Afines*, 3, 189-202.
- Lobo A, Saz P, Marcos G, Grupo de Trabajo ZARADEMP. 2002. MMSE: Examen Cognoscitivo Mini-Mental. Madrid; TEA Ediciones.
- Ludowig E, Trautner P, Kurthen M, Schaller C, Bien CG, Elger CE, Rosburg T. 2008. Intracranially recorded memory-related potentials reveal higher posterior than anterior hippocampal involvement in verbal encoding and retrieval. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 20, 841-851.
- Lustig C, Snyder AZ, Bhakta M, O'Brien KC, McAvoy M, Raichle ME, *et al.* 2003. Functional deactivations: change with age and dementia of the Alzheimer type. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 14504-14509.
- Maioli F, Coveri M, Pagni P, Chiandetti C, Marchetti C, Ciarrocchi R, *et al.* 2007. Conversion of mild cognitive impairment to dementia in elderly subjects: a preliminary study in a memory and cognitive disorder unit. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 44[Suppl. 1], 233-241.
- Martínez de la Iglesia J, Onís MC, Dueñas HR, Albert CC, Aguado TC, Luque LR. 2002. Validación española del cuestionario de Yesavage abreviado (GDS) para el despistaje de depresión en mayores de 65 años: adaptación y validación. *Revista de Medicina Familiar y Comunitaria*, 12, 620-630.
- Martino ME, de Villoria JG, Lacalle-Aurioles M, Olazarán J, Cruz I, Navarro E, *et al.* 2013. Comparison of different methods of spatial normalization of FDG-PET brain images in the voxel-wise analysis of MCI patients and controls. *Annals of Nuclear Medicine*, 27, 600-609.
- Martins CA, Oulhaj A, de Jager CA, Williams JH. 2005. APOE alleles predict the rate of cognitive decline in Alzheimer disease: a nonlinear model. *Neurology*, 65, 1888-1893.

- Mattson MP, Magnus T. 2006. Ageing and neuronal vulnerability. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7, 278-294.
- Mayes A, Montaldi D, Migo E. 2007. Associative memory and the medial temporal lobes. *Trends in Cognitive Sciences*, 11, 126-135.
- Maylor EA. 1995. Remembering versus knowing television theme tunes in middle-aged and elderly adults. *British Journal of Psychology*, 86, 21-25.
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, *et al.* 2011. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7, 263-269.
- Mehta PD, Pirttilä T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. 2000. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 57, 100-105.
- Metzler-Baddeley C, Hunt S, Jones DK, Leemans A, Aggleton JP, O'Sullivan MJ. 2012. Temporal association tracts and the breakdown of episodic memory in mild cognitive impairment. *Neurology*, 79, 2233-2240.
- Miller S, Dykes D, Polesky H. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215.
- Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, Kuhl DE. 1997. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 42, 85-94.
- Moffat SD, Szekely CA, Zonderman AB, Kabani NJ, Resnick SM. 2000. Longitudinal change in hippocampal volume as a function of apolipoprotein E genotype. *Neurology*, 55, 134-136.
- Mori E, Yoneda Y, Yamashita H, Hirono N, Ikeda M, Yamadori A. 1997. Medial temporal structures relate to memory impairment in Alzheimer's disease: an MRI volumetric study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 63, 214-221.
- Mormino EC, Kluth JT, Madison CM, Rabinovici GD, Baker SL, Miller BL, *et al.* 2009. Episodic memory loss is related to hippocampal-mediated beta-amyloid deposition in elderly subjects. *Brain*, 132, 1310-1323.
- Morris MC. 2009. The role of nutrition in Alzheimer's disease: epidemiological evidence. *European Journal of Neurology*, 16[Suppl 1], 1-7.
- Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL, Rubin EH, Berg L. 2001. Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 58, 397-405.

- Mortimer JA, Gosche KM, Riley KP, Markesbery WR, Snowdon DA. 2004. Delayed recall, hippocampal volume and Alzheimer neuropathology: findings from the Nun Study. *Neurology*, 62, 428-432.
- Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, *et al.* 1995. Reduction of beta-amyloid peptide₄₂ in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 38, 643-648.
- Mudher A, Lovestone S. 2002. Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands? *Trends in Neurosciences*, 25, 22-26.
- Mufson EJ, Chen EY, Cochran EJ, Beckett LA, Bennett DA, Kordower JH. 1999. Entorhinal cortex beta-amyloid load in individuals with mild cognitive impairment. *Experimental Neurology*, 158, 469-490.
- Naveh-Benjamin M, Brav TK, Levy O. 2007. The associative memory deficit of older adults: the role of strategy utilization. *Psychological Aging*, 22, 202-208.
- Nelson PT, Alafuzoff I, Bigio EH, Bouras C, Braak H, Cairns NJ, *et al.* 2012. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 71, 362-381.
- Nestor PJ, Fryer TD, Smielewski P, Hodges JR. 2003. Limbic hypometabolism in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Annals of Neurology*, 54, 343-351.
- Nilsson LG, Adolfsson R, Bäckman L, Cruts M, Nyberg L, Small BJ, Van Broeckoven C. 2006. The influence of APOE status on episodic and semantic memory: data from a population-based study. *Neuropsychology*, 20, 645-657.
- O'Brien JT, Burns A, BAP Dementia Consensus Group. 2011. Clinical practice with anti-dementia drugs: a revised (second) consensus statement from the British Association for Psychopharmacology. *Journal of Psychopharmacology*, 25, 997-1019.
- O'Donnell BF, Drachman DA, Barnes HJ, Peterson KE, Swearer JM, Lew RA. 1992. Incontinence and troublesome behaviors predict institutionalization in dementia. *Journal of Geriatrics, Psychiatry and Neurology*, 5, 45-52.
- O'Dwyer L, Lamberton F, Bokde AL, Ewers M, Faluyi YO, Tanner C, *et al.* 2011. Using diffusion tensor imaging and mixed-effects models to investigate primary and secondary white matter degeneration in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 26, 667-682.
- O'Reilly RC, McClelland JL. 1994. Hippocampal conjunctive encoding, storage, and recall: avoiding a tradeoff. *Hippocampus*, 4, 661-682.
- O'Toole AJ, Abdi H, Jiang F, Phillips, PJ. 2007. Fusing face-verification algorithms and humans. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics. Part B*, 37, 1149-1155.

- Okello A, Koivunen J, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Någren K, *et al.* 2009. Conversion of amyloid positive and negative MCI to AD over 3 years: an 11C-PIB PET study. *Neurology*, 73, 754-760.
- Old SR, Naveh-Benjamin M. 2008. Differential effects of age on item and associative measures of memory: a meta-analysis. *Psychological Aging*, 23, 104-118.
- Parker A, Gaffan D. 1997. Mammillary body lesions in monkeys impair object-in-place memory: functional unity of the fornix–mammillary system. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 9, 512-521.
- Parnetti L, Chiasserini D, Eusebi P, Giannandrea D, Bellomo G, De Carlo C, *et al.* 2012. Performance of a β 1-40, a β 1-42, total tau, and phosphorylated tau as predictors of dementia in a cohort of patients with mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 29, 229-238.
- Pengas G, Hodges JR, Watson P, Nestor PJ. 2010. Focal posterior cingulate atrophy in incipient Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 31, 25-33.
- Pennanen C, Kivipelto M, Tuomainen S, Hartikainen P, Hänninen T, Laakso MP, *et al.* 2004. Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiology of Aging*, 25, 303-310.
- Pennanen C, Testa C, Boccardi M, Laakso MP, Hallikainen M, Helkala EL, *et al.* 2005. A voxel based morphometry study on mild cognitive impairment. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 76, 11-14.
- Perlmutter M, Mitchell DB. 1986. Semantic activation and episodic memory: Age similarities and differences. *Developmental Psychology*, 22, 86-94.
- Perri R, Carlesimo GA, Serra L, Caltagirone C, Early Diagnosis Group of the Italian Interdisciplinary Network on Alzheimer's Disease. 2005. Characterization of memory profile in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 27, 1033-1055.
- Perri R, Carlesimo GA, Serra L, Caltagirone C, Early Diagnosis Group of the Italian Interdisciplinary Network on Alzheimer's Disease. 2009. When the amnesic mild cognitive impairment disappears: characterisation of the memory profile. *Cognitive and Behavioral Neurology*, 22, 109-116.
- Perri R, Carlesimo GA, Zannino GD, Mauri M, Muolo B, Pettenati C, Caltagirone C. 2003. Intentional and automatic measures of specific-category effect in the semantic impairment of patients with Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 41, 1509-1522.
- Perry RJ, Watson P, Hodges JR. 2000. The nature and staging of attention dysfunction in early (minimal and mild) Alzheimer's disease: relationship to episodic and semantic memory impairment. *Neuropsychologia*, 38, 252-271.

- Petersen RC. 2009. Early diagnosis of Alzheimer's disease: is MCI too late? *Current Alzheimer Research*, 6, 324-330.
- Petersen RC, Roberts RO, Knopman DS, Boeve BF, Geda YE, Ivnik RJ, *et al.* 2009. Mild cognitive impairment: ten years later. *Archives of Neurology*, 66, 1447-1455.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. 1999. Mild cognitive impairment. Clinical characterization and outcome. *Archives of Neurology*, 56, 303-308.
- Pike CJ, Cummings BJ, Monzavi R, Cotman CW. 1994. Beta-amyloid-induced changes in cultured astrocytes parallel reactive astrogliosis associated with senile plaques in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 63, 517-531.
- Pluta J, Yushkevich P, Das S, Wolk D. 2012. In vivo analysis of hippocampal subfield atrophy in mild cognitive impairment via semi-automatic segmentation of T2-weighted MRI. *Journal of Alzheimer's Disease*, 31, 85-99.
- Podtelezchnikov AA, Tanis KQ, Nebozhyn M, Ray WJ, Stone DJ, Loboda AP. 2011. Molecular insights into the pathogenesis of Alzheimer's disease and its relationship to normal aging. *PLoS ONE*, 6, e29610.
- Praetorius M, Thorvaldsson V, Hassing LB, Johansson B. 2013. Substantial effects of apolipoprotein E ϵ 4 on memory decline in very old age: longitudinal findings from a population-based sample. *Neurobiology of Aging*, 34, 2734-2739.
- Prestia A, Caroli A, van der Flier WM, Ossenkoppele R, Van Berckel B, Barkhof F, *et al.* 2013. Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. *Neurology*, 80, 1048-1056.
- Price JL, Morris JC. 1999. Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, 45, 358-368.
- Prinz PN, Vitaliano PP, Vitiello MV, Bokan J, Raskind M, Peskind E, *et al.* 1982. Sleep, EEG and mental function changes in senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurobiology of Aging*, 3, 361-370).
- 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.
- Qin P, Liu Y, Shi J, Wang Y, Duncan N, Gong Q, *et al.* 2011. Dissociation between anterior and posterior cortical regions during self-specificity and familiarity: A combined fMRI-meta-analytic study. *Human Brain Mapping*, 33, 154-164.
- Radanovic M, Pereira FR, Stella F, Aprahamian I, Ferreira LK, Forlenza OV, *et al.* 2013. White matter abnormalities associated with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a critical review of MRI studies. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 13, 483-493.

- Rapp MA, Reischies FM. 2005. Attention and executive control predict Alzheimer disease in late life: results from the Berlin Aging Study (BASE). *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 13, 134-141.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Martelli M, Servadei L, Brunetti N, *et al.* 2006. Conversion of mild cognitive impairment to dementia: predictive role of mild cognitive impairment subtypes and vascular risk factors. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 21, 51-58.
- Reiman EM, Chen K, Liu X, Bandy D, Yu M, Lee W, *et al.* 2009. Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 6820-6825.
- Reinvang I, Grambaite R, Espeseth T. 2012. Executive Dysfunction in MCI: Subtype or Early Symptom. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, 936272.
- Reisberg B, Ferris S, de Leon MJ, Franssen ESM, Kluger A, Mir P, *et al.* 1988. Stage-specific behavioral, cognitive, and in vivo changes in community residing subjects with age-associated memory impairment and primary degenerative dementia of the Alzheimer type. *Drug Development Research*, 15, 101-114.
- Reitz C, Brickman AM, Brown TR, Manly J, DeCarli C, Small SA, *et al.* 2009. Linking hippocampal structure and function to memory performance in an aging population. *Archives of Neurology*, 66, 1385-1392.
- Rhodes MG, Castel AD, Jacoby LL. 2008. Associative recognition of face pairs by younger and older adults: The role of familiarity-based processing. *Psychology and Aging*, 23, 239-249.
- Risacher SL, Saykin AJ, West JD, Shen L, Firpi HA, McDonald BC, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). 2009. Baseline MRI predictors of conversion from MCI to probable AD in the ADNI cohort. *Current Alzheimer Research*, 6, 347-361.
- Risacher SL, Shen BS, West JD, Kim S, McDonald BC, Beckett LA, *et al.* Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). 2010. Longitudinal MRI atrophy biomarkers: relationship to conversion in the ADNI cohort. *Neurobiology of Aging*, 31, 1401-1418.
- Risacher SL, Kim S, Shen L, Nho K, Foroud T, Green RC, *et al.* 2013. The role of apolipoprotein E (APOE) genotype in early mild cognitive impairment (E-MCI). *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5, 11.
- Ritchie K, Artero S, Touchon J. 2001. Classification criteria for mild cognitive impairment: A population-based validation study. *Neurology*, 56, 37-42.
- Rodrigue KM, Raz N. 2004. Shrinkage of the entorhinal cortex over five years predicts memory performance in healthy adults. *Journal of Neuroscience*, 24, 956-963.

- Rodriguez GA, Burns MP, Weeber EJ, Rebeck GW. 2013. Young APOE4 targeted replacement mice exhibit poor spatial learning and memory, with reduced dendritic spine density in the medial entorhinal cortex. *Learning & Memory*, 20, 256-266.
- Rogawski MA, Wenk GL. 2003. The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drug Reviews*, 9, 275-308.
- Rolls ET. 2010. A computational theory of episodic memory formation in the hippocampus. *Behavioral and Brain Research*, 215, 180-196.
- Rolls ET, Kesner RP. 2006. A computational theory of hippocampal function, and empirical tests of the theory. *Progress in Neurobiology*, 79, 1-48.
- Rombouts SA, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ, Scheltens P. 2005. Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Human Brain Mapping*, 26, 231-239.
- Rosén C, Hansson O, Blennow K, Zetterberg H. 2013. Fluid biomarkers in Alzheimer's disease - current concepts. *Molecular Neurodegeneration*, 8, 20.
- Rowe CC, Ng S, Ackermann U, Gong SJ, Pike K, Savage G, Cowie TF, *et al.* 2007. Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia. *Neurology*, 68, 1718-1725.
- Salat DH, Tuch DS, van der Kouwe AJ, Greve DN, Pappu V, Lee SY, *et al.* 2010. White matter pathology isolates the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 31, 244-256.
- Salmon DP, Ferris SH, Thomas RG, Sano M, Cummings JL, Sperling RA, *et al.* 2013. Age and apolipoprotein E genotype influence rate of cognitive decline in nondemented elderly. *Neuropsychology*, 27, 391-401.
- Santillo AF, Gambini JP, Lannfelt L, Långström B, Ulla-Marja L, Kilander L, Engler H. 2011. In vivo imaging of astrocytosis in Alzheimer's disease: an ¹¹C-L-deuteriodesprenyl and PIB PET study. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 38, 2202-2208.
- Sasaki M, Kodama C, Hidaka S, Yamashita F, Kinoshita T, Nemoto K, *et al.* 2009. Prevalence of four subtypes of mild cognitive impairment and APOE in a Japanese community. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 24, 1119-1126.
- Saykin AJ, Wishart HA, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, West JD, *et al.* 2006. Older adults with cognitive complaints show brain atrophy similar to that of amnesic MCI. *Neurology*, 67, 834-842.
- Schacter DL, Buckner RL. 1998. Priming and the brain. *Neuron*, 20, 185-195.
- Schacter DL, Wagner AD. 1999. Medial temporal lobe activations in fMRI and PET studies of episodic encoding and retrieval. *Hippocampus*, 9, 7-24.

Shaffer JL, Petrella JR, Sheldon FC, Choudhury KR, Calhoun VD, Coleman RE, Doraiswamy PM, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2013. Predicting cognitive decline in subjects at risk for Alzheimer disease by using combined cerebrospinal fluid, MR imaging, and PET biomarkers. *Radiology*, 266, 583-591.

Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, DeKosky ST, Mufson EJ. 2007. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 68, 1501-1508.

Scher AI, Xu Y, Korf ES, White LR, Scheltens P, Toga AW, *et al.* 2007. Hippocampal shape analysis in Alzheimer's disease: a population-based study. *Neuroimage*, 36, 8-18.

Schilling S, DeStefano AL, Sachdev PS, Choi SH, Mather KA, DeCarli CD, *et al.* 2013. APOE genotype and MRI markers of cerebrovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 81, 292-300.

Schmand B, Eikelenboom P, van Gool WA, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2012. Value of diagnostic tests to predict conversion to Alzheimer's disease in young and old patients with amnesic mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 29, 641-648.

Schmidt-Wilcke T, Poljansky S, Hierlmeier S, Hausner J, Ibach B. 2009. Memory performance correlates with gray matter density in the ento-/perirhinal cortex and posterior hippocampus in patients with mild cognitive impairment and healthy controls: a voxel based morphometry study. *Neuroimage*, 47, 1914-1920.

Schmitz C, Rutten BP, Pielen A, Schäfer S, Wirths O, Tremp G, *et al.* 2004. Hippocampal neuron loss exceeds amyloid plaque load in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *American Journal of Pathology*, 164, 1495-1502.

Schönheit B, Zarski R, Ohm TG, 2004. Spatial and temporal relationships between plaques and tangles in Alzheimer-pathology. *Neurobiology of Aging*, 25, 697-711.

Schröeter ML, Stein T, Maslowski N, Neumann J. 2009. Neural correlates of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic and quantitative meta-analysis involving 1351 patients. *Neuroimage*, 47, 1196-1206.

Schuff N, Woerner N, Boreta L, Kornfield T, Shaw LM, Trojanowski JQ, *et al.* 2009. MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer's disease in relation to ApoE genotype and biomarkers. *Brain*, 132, 1067-1077.

Schwarz S, Froelich L, Burns A. 2012. Pharmacological treatment of dementia. *Current Opinion in Psychiatry*, 25, 542-550.

Scola E, Bozzali M, Agosta F, Magnani G, Franceschi M, Sormani MP, *et al.* 2010. A diffusion tensor MRI study of patients with MCI and AD with a 2-year clinical follow-up. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 81, 798-805.

Selkoe DJ. 1991. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6, 487-498.

- Selkoe DJ. 2000. Toward a comprehensive theory for Alzheimer's disease. Hypothesis: Alzheimer's disease is caused by the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 924, 17-25.
- Selkoe DJ. 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiological Reviews*, 81, 741-66.
- Selnes P, Aarsland D, Bjørnerud A, Gjerstad L, Wallin A, Hessen E, *et al.* 2013. Diffusion tensor imaging surpasses cerebrospinal fluid as predictor of cognitive decline and medial temporal lobe atrophy in subjective cognitive impairment and mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 33, 723-736.
- Seneff S, Wainwright G, Mascitelli L. 2011. Nutrition and Alzheimer's disease: the detrimental role of a high carbohydrate diet. *European Journal of Internal Medicine*, 22, 134-140.
- Serra L, Cercignani M, Lenzi D, Perri R, Fadda L, Caltagirone C, *et al.* 2010. Grey and white matter changes at different stages of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 19, 147-159.
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. 2011. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1, a006189.
- Shao J, Myers N, Yang Q, Feng J, Plant C, Böhm C, *et al.* 2012. Prediction of Alzheimer's disease using individual structural connectivity networks. *Neurobiology of Aging*, 33, 2756-2765.
- Shi F, Liu B, Zhou Y, Yu C, Jiang T. 2009. Hippocampal volume and asymmetry in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Meta-analyses of MRI studies. *Hippocampus*, 19, 1055-1064.
- Shoji M, Matsubara E, Murakami T, Manabe Y, Abe K, Kanai M, *et al.* 2002. Cerebrospinal fluid tau in dementia disorders: a large scale multicenter study by a Japanese study group. *Neurobiology of Aging*, 23, 363-370.
- Shulman A. 1974. Memory for words recently classified. *Memory & Cognition*, 2, 47-52.
- Sing CF, Davignon J. 1985. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *American Journal of Human Genetics*, 37, 268-285.
- Sluimer JD, Vrenken H, Blankenstein MA, Fox NC, Scheltens P, Barkhof F, *et al.* 2008. Whole-brain atrophy rate in Alzheimer disease: identifying fast progressors. *Neurology*, 70, 1836-1841.
- Small SA, Chawla MK, Buonocore M, Rapp PR, Barnes CA. 2004a. Imaging correlates of brain function in monkeys and rats isolates a hippocampal subregion differentially vulnerable to aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 7181-7186.

- Small BJ, Rosnick CB, Fratiglioni L, Backman L. 2004b. Apolipoprotein E and cognitive performance: A meta-analysis. *Psychology and Aging*, 19, 592-600.
- Smith GE, Bohac DL, Waring SC, Kokmen E, Tangalos EG, Ivnik RJ, Petersen RC. 1998. Apolipoprotein E genotype influences cognitive 'phenotype' in patients with Alzheimer's disease but not in healthy control subjects. *Neurology*, 50, 355-362.
- Snodgrass JG, Corwin J. 1988. Pragmatics of measuring recognition memory: applications to dementia and amnesia. *Journal of Experimental Psychology. General*, 117, 34-50.
- Son SJ, Lee KS, Lee Y, Baek JH, Choi SH, Na DL, *et al.* 2012. Association between white matter hyperintensity severity and cognitive impairment according to the presence of the apolipoprotein E (APOE) $\epsilon 4$ allele in the elderly: retrospective analysis of data from the CREDOS study. *Journal of Clinical Psychiatry*, 73, 1555-1562.
- Sorg C, Riedl V, Perneczky R, Kurz A, Wohlschläger AM. 2009. Impact of Alzheimer's disease on the functional connectivity of spontaneous brain activity. *Current Alzheimer Research*, 6, 541-553.
- Squire LR, Stark CE, Clark RE. 2004. The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 279-306.
- Stahl R, Dietrich O, Teipel SJ, Hampel H, Reiser MF, Schoenberg SO. 2007. White matter damage in Alzheimer disease and mild cognitive impairment: assessment with diffusion-tensor MR imaging and parallel imaging techniques. *Radiology*, 243, 483-492.
- Staresina BP, Davachi L. 2008. Selective and shared contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to episodic item and associative encoding. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 20, 1478-1489.
- Staresina BP, Gray JC, Davachi L. 2009. Event congruency enhances episodic memory encoding through semantic elaboration and relational binding. *Cerebral Cortex*, 19, 1198-1207.
- Stebbins GT, Murphy CM. 2009. Diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Behavioural Neurology*, 21, 39-49.
- Steele ML, Robinson SR. 2010. Reactive astrocytes give neurons less support: implications for Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33, 423.e1-423.e13.
- Steele C, Rovner B, Chase GA, Folstein M. 1990. Psychiatric symptoms and nursing home placement of patients with Alzheimer's disease. *American Journal of Psychiatry*, 147, 1049-1051.
- Stelzman RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. 1995. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde". *Clinical Anatomy*, 8, 429-31.

- Stoub TR, Bulgakova M, Leurgans S, Bennett DA, Fleischman D, Turner DA. 2005. MRI predictors of risk of incident Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology*, 64, 1520-1524.
- Stoub TR, deToledo-Morrell L, Stebbins GT, Leurgans S, Bennett DA, Shah RC. 2006. Hippocampal disconnection contributes to memory dysfunction in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 10041-10045.
- Stoub TR, Rogalski EJ, Leurgans S, Bennett DA, deToledo-Morrell L. 2008. Rate of entorhinal and hippocampal atrophy in incipient and mild AD: relation to memory function. *Neurobiology of Aging*, 31, 1089-98.
- Stoub TR, Rogalski EJ, Leurgans S, Bennett DA, deToledo-Morrell L. 2010. Rate of entorhinal and hippocampal atrophy in incipient and mild AD: relation to memory function. *Neurobiology of Aging*, 31, 1089-1098.
- Stricker NH, Salat DH, Foley JM, Zink TA, Kellison IL, McFarland CP, *et al.* 2013. Decreased White Matter Integrity in Neuropsychologically Defined Mild Cognitive Impairment Is Independent of Cortical Thinning. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 1, 1-13.
- Stricker NH, Schweinsburg BC, Delano-Wood L, Wierenga CE, Bangen KJ, Haaland KY, *et al.* 2009. Decreased white matter integrity in late-myelinating fiber pathways in Alzheimer's disease supports retrogenesis. *Neuroimage*, 45, 10-16.
- Strozyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ. 2003. CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology*, 60, 652-656.
- Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, *et al.* 2003. Decreased beta-amyloid1-42 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *Journal of American Medical Association*, 289, 2094-2103.
- Sunderland T, Wolozin B, Galasko D, Levy J, Dukoff R, Bahro M, *et al.* 1999. Longitudinal stability of CSF tau levels in Alzheimer patients. *Biological Psychiatry*, 46, 750-755.
- Supekar K, Menon V, Rubin D, Musen M, Greicius MD. 2008. Network analysis of intrinsic functional brain connectivity in Alzheimer's disease. *PLoS Computational Biology*, 4, e1000100.
- Tabert MH, Manly JJ, Liu X, Pelton GH, Rosenblum S, Jacobs M, *et al.* 2006. Neuropsychological prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *Archives of General Psychiatry*, 63, 916-924.
- Takashima A, Petersson KM, Rutters F, Tendolkar I, Jensen O, Zwarts MJ, *et al.* 2006. Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 756-761.

- Tapiola T, Pennanen C, Tapiola M, Tervo S, Kivipelto M, Hänninen T, *et al.* 2008. MRI of hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment: a follow-up study. *Neurobiology of Aging*, 29, 31-38.
- Tate D, Bigler ED. 2000. Fornix and hippocampal atrophy in traumatic brain injury. *Learning & Memory*, 7, 442-446.
- TEA S.A. 1999. WAIS-III: Escala de inteligencia de Wechsler para Adultos. Tercera versión [WAIS-III: Wechsler adult Intelligence scale. Third version]. Madrid: TEA.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, *et al.* 1991. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Annals of Neurology*, 30, 572-580.
- Thompson SA, Graham KS, Patterson K, Sahakian BJ, Hodges JR. 2002. Is knowledge of famous people disproportionately impaired in patients with early and questionable Alzheimer's disease? *Neuropsychology*, 16, 344-358.
- Tosun D, Joshi S, Weiner MW. 2013. Neuroimaging predictors of brain amyloidosis in mild cognitive impairment. *Annals of Neurology*.
- Traykov L, Raoux N, Latour F, Gallo L, Hanon O, Baudic S, *et al.* 2007. Executive functions deficit in mild cognitive impairment. *Cognitive and Behavioural Neurology*, 20, 219-224.
- Trivedi MA, Wichmann AK, Torgerson BM, Ward MA, Schmitz TW, Ries ML, *et al.* 2006. Structural MRI discriminates individuals with Mild Cognitive Impairment from age-matched controls: A combined neuropsychological and voxel based morphometry study. *Alzheimer's & Dementia*, 2, 296-302.
- Trojanowski JQ, Vandeerstichele H, Korecka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, *et al.* 2010. Update on the biomarker core of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative subjects. *Alzheimer's & Dementia*, 6, 230-238.
- Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Hayman-Abello BA, Craik FI, Moscovitch M. 2008. Item and associative memory in amnesic mild cognitive impairment: performance on standardized memory tests. *Neuropsychology*, 22, 10-16.
- Tse D, Langston RF, Kakeyama M, Bethus I, Spooner PA, Wood ER, *et al.* 2007. Schemas and memory consolidation. *Science*, 316, 76-82.
- Tse D, Takeuchi T, Kakeyama M, Kajii Y, Okuno H, Tohyama C, *et al.* 2011. Schema-dependent gene activation and memory encoding in neocortex. *Science*, 333, 891-895.
- Tsitsopoulos PP, Marklund N. 2013. Amyloid- β Peptides and Tau Protein as Biomarkers in Cerebrospinal and Interstitial Fluid Following Traumatic Brain Injury: A Review of Experimental and Clinical Studies. *Frontiers in Neurology*, 4, 79.

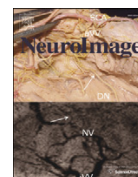
- Tsukiura T, Suzuki C, Shigemune Y, Mochizuki-Kawai H. 2008. Differential contributions of the anterior temporal and medial temporal lobe to the retrieval of memory for person identity information. *Human Brain Mapping*, 29, 1343-1354.
- Tulving E, Pearlstone Z. 1966. Availability vs Accessibility of information in memory for words. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behaviour*, 5, 381-391.
- Uddin LQ, Kelly AM, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP. 2009. Functional connectivity of default mode network components: correlation, anticorrelation, and causality. *Human Brain Mapping*, 30, 625-637.
- Uncapher M, Rugg M. 2009. Selecting for memory? The influence of selective attention on the mnemonic binding of contextual information. *Journal of Neuroscience*, 29, 8270-8279.
- Van de Pol LA, van der Flier WM, Korf ES, Fox NC, Barkhof F, Scheltens P. 2007. Baseline predictors of rates of hippocampal atrophy in mild cognitive impairment. *Neurology*, 69, 1491-1497.
- Van Hoesen G. 1982. The parahippocampal gyrus: New observations regarding its cortical connections in the monkey. *Trends in Neurosciences*, 5, 345-350.
- Van Hoesen GW, Hyman BT. 1990. Hippocampal formation: anatomy and the patterns of pathology in Alzheimer's disease. *Progress in Brain Research*, 83, 445-457.
- Van Hoesen GW, Pandya DN. 1975. Some connections of the entorhinal (area 28) and perirhinal (area 35) cortices of the rhesus monkey. III. Efferent connections. *Brain Research*, 95, 39-59.
- Van Hoesen GW, Pandya DN, Butters N. 1972. Cortical afferents to the entorhinal cortex of the Rhesus monkey. *Science* 175, 1471-1473.
- Van Kesteren MT, Fernández G, Norris DG, Hermans EJ. 2010. Persistent schema-dependent hippocampal-neocortical connectivity during memory encoding and postencoding rest in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 7550-7555.
- Van Kesteren MT, Ruitter DJ, Fernández G, Henson RN. 2012. How schema and novelty augment memory formation. *Trends in Neurosciences*, 35, 211-219.
- Villain N, Desgranges B, Viader F, de la Sayette V, Mézenge F, Landeau B, *et al.* 2008. Relationships between hippocampal atrophy, white matter disruption, and gray matter hypometabolism in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 28, 6174-6181.
- Visser PJ, Verhey FR, Hofman PA, Scheltens P, Jolles J. 2002. Medial temporal lobe atrophy predicts Alzheimer's disease in patients with minor cognitive impairment. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 72, 491-497.

- Von Gunten A, Kövari E, Bussière T, Rivara CB, Gold G, Bouras C, Hof PR, *et al.* 2006. Cognitive impact of neuronal pathology in the entorhinal cortex and CA1 field in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 27, 270-277.
- Vos SJ, van Rossum IA, Verhey F, Knol DL, Soininen H, Wahlund LO, *et al.* 2013. Prediction of Alzheimer disease in subjects with amnesic and nonamnesic MCI. *Neurology*, 80, 1124-1132.
- Voss JL, Paller KA. 2006. Fluent conceptual processing and explicit memory for faces are electrophysiologically distinct. *Journal of Neuroscience*, 26, 926-933.
- Wagner AD, Schacter DL, Rotte M, Koutstaal W, Maril A, Dale AM, *et al.* 1998. Building memories: remembering and forgetting of verbal experiences as predicted by brain activity. *Science*, 281, 1188-1191.
- Wang JZ, Liu F. 2008. Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Progress in Neurobiology*, 85, 148-175.
- Wang L, Miller JP, Gado MH, McKeel DW, Rothermich M, Miller MI, *et al.* 2006. Abnormalities of hippocampal surface structure in very mild dementia of the Alzheimer type. *Neuroimage*, 30, 52-60.
- Wang L, Goldstein FC, Veledar E, Levey AI, Lah JJ, Meltzer CC, *et al.* 2009. Alterations in cortical thickness and white matter integrity in mild cognitive impairment measured by whole-brain cortical thickness mapping and diffusion tensor imaging. *American Journal of Neuroradiology*, 30, 893-899.
- Wang C, Stebbins GT, Medina DA, Shah RC, Bammer R, Moseley ME, deToledo-Morrell L. 2012. Atrophy and dysfunction of parahippocampal white matter in mild Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 33, 43-52.
- Waragai M, Okamura N, Furukawa K, Tashiro M, Furumoto S, Funaki Y, *et al.* 2009. Comparison study of amyloid PET and voxel-based morphometry analysis in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Neurological Sciences*, 285, 100-108.
- Weiner MW. 2013. Further insights into Alzheimer disease pathogenesis. *Nature Reviews. Neurology*, 9, 65-66.
- West MJ, Coleman PD, Flood DG, Troncoso JC. 1994. Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal aging and Alzheimer's disease. *Lancet*, 344, 769-772.
- West MJ, Kawas CH, Martin LJ, Troncoso JC. 2000. The CA1 region of the human hippocampus is a hot spot in Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 908, 255-259.
- Westman E, Muehlboeck JS, Simmons A. 2012. Combining MRI and CSF measures for classification of Alzheimer's disease and prediction of mild cognitive impairment conversion. *Neuroimage*, 62, 229-238.

- Whitfield-Gabrieli S, Moran JM, Nieto-Castañón A, Triantafyllou C, Saxe R, Gabrieli JD. 2011. Associations and dissociations between default and self-reference networks in the human brain. *Neuroimage*, 55, 225-232.
- Whitwell JL, Shiung MM, Przybelski SA, Weigand SD, Knopman DS, Boeve BF, *et al.* 2008. MRI patterns of atrophy associated with progression to AD in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*, 70, 512-520.
- Wilson RS, Beckett LA, Bennett DA, Albert MS, Evans DA. 1999. Change in cognitive function in older persons from a community population: relation to age and Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 56, 1274-1279.
- Wilson RS, Sullivan MP, deToledo-Morrell L, Stebbins GT, Bennett DA, Morrell F. 1996. Association of memory and cognition in Alzheimer's disease with volumetric estimates of temporal lobe structures. *Neuropsychology*, 10, 459-463.
- Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, *et al.* 2004. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *Journal of Internal Medicine*, 256, 240-246.
- Wolk DA, Dickerson BC, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. 2010. Apolipoprotein E (APOE) genotype has dissociable effects on memory and attentional-executive network function in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 10256-10261.
- Wolk DA, Price JC, Saxton JA, Snitz BE, James JA, Lopez OL, *et al.* 2009. Amyloid imaging in mild cognitive impairment subtypes. *Annals of Neurology*, 65, 557-568.
- Wolk DA, Signoff ED, Dekosky ST. 2008. Recollection and familiarity in amnesic mild cognitive impairment: a global decline in recognition memory. *Neuropsychologia*, 46, 1965-1978.
- Wolozin B, Wang SW, Li NC, Lee A, Lee TA, Kazis LE. 2007. Simvastatin is associated with a reduced incidence of dementia and Parkinson's disease. *BMC Medicine*, 5, 20.
- Xie J, Alcantara D, Amenta N, Fletcher E, Martinez O, Persianinova M, *et al.* 2009. Spatially localized hippocampal shape analysis in late-life cognitive decline. *Hippocampus*, 19, 526-532.
- Xu WL, Caracciolo B, Wang HX, Santoni G, Winblad B, Fratiglioni L. 2013. Accelerated progression from mild cognitive impairment to dementia among APOE $\epsilon 4\epsilon 4$ carriers. *Journal of Alzheimer's Disease*, 33, 507-515.
- Xu Y, Jack CR Jr, O'Brien PC, Kokmen E, Smith GE, Ivnik RJ, *et al.* 2000. Usefulness of MRI measures of entorhinal cortex versus hippocampus in AD. *Neurology*, 54, 1760-1767.
- Yang J, Pan P, Song W, Huang R, Li J, Chen K, *et al.* 2012. Voxelwise meta-analysis of gray matter anomalies in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment using anatomic likelihood estimation. *Journal of Neurological Sciences*, 316, 21-29.

- Yassa MA, Stark SM, Bakker A, Albert MS, Gallagher M, Stark CE. 2010. High-resolution structural and functional MRI of hippocampal CA3 and dentate gyrus in patients with amnesic Mild Cognitive Impairment. *Neuroimage*, 51, 1242-1252.
- Yi DJ, Chun MM. 2005. Attentional modulation of learning-related repetition attenuation effects in human parahippocampal cortex. *Journal of Neuroscience*, 25, 3593-3600.
- Yonelinas AP. 2002. The nature of recollection and familiarity: A review of 30 years of research. *Journal of Memory and Language*, 46, 441-517.
- Yoon B, Shim YS, Cheong HK, Kim YD, Lee KO, Hong YJ, *et al.* 2013. Interaction of white matter hyperintensities (WMHs) and apolipoprotein E (APOE) genotypes on cognition in patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI). *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 57, 292-297.
- Yu L, Boyle P, Schneider JA, Segawa E, Wilson RS, Leurgans S, Bennett DA. *et al.* 2013. APOE ϵ 4, Alzheimer's Disease Pathology, Cerebrovascular Disease, and Cognitive Change Over the Years Prior to Death. *Psychological Aging*.
- Yu P, Dean RA, Hall SD, Qi Y, Sethuraman G, Willis BA, *et al.* 2012. Enriching amnesic mild cognitive impairment populations for clinical trials: optimal combination of biomarkers to predict conversion to dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*, 32, 373-385.
- Zhang Y, Schuff N, Camacho M, Chao LL, Fletcher TP, Yaffe K, *et al.* 2013. MRI markers for mild cognitive impairment: comparisons between white matter integrity and gray matter volume measurements. *PLoS One*, 8, e66367.
- Zhang H, Trollor JN, Wen W, Zhu W, Crawford JD, Kochan NA, *et al.* 2011. Grey matter atrophy of basal forebrain and hippocampus in mild cognitive impairment. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 82, 487-493.
- Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED, Growdon ME, Jang JY, Rabinovici GD, *et al.* 2010. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain*, 133, 1352-1367.
- Zhuang L, Sachdev PS, Trollor JN, Kochan NA, Reppermund S, Brodaty H, *et al.* 2012. Microstructural white matter changes in cognitively normal individuals at risk of amnesic MCI. *Neurology*, 79, 748-754.
- Ziolko SK, Weissfeld LA, Klunk WE, Mathis CA, Hoge JA, Lopresti BJ, *et al.* 2006. Evaluation of voxel-based methods for the statistical analysis of PIB PET amyloid imaging studies in Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 33, 94-102.
- Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. 1986. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 6, 2950-2967.

9. ANEXO I



Associative memory deficits in mild cognitive impairment: The role of hippocampal formation

M. Atienza^{a,*}, K.C. Atalaia-Silva^a, G. Gonzalez-Escamilla^a, E. Gil-Neciga^b,
A. Suarez-Gonzalez^b, J.L. Cantero^a

^a Laboratory of Functional Neuroscience, Spanish Network of Excellence for Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), University Pablo de Olavide, Seville, Spain

^b Dementia Unit, Neurology Department, University Hospital Virgen del Rocío, Seville, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 February 2011

Revised 20 April 2011

Accepted 17 May 2011

Available online 26 May 2011

Keywords:

Mild cognitive impairment

Associative memory

Entorhinal cortex

Hippocampus

Probabilistic cytoarchitectonic maps

Tensor-based morphometry

ABSTRACT

Neuropathological events featuring early stages of Alzheimer's disease (AD) appear in the entorhinal cortex (EC), subiculum (SB) and cornu ammonis 1 (CA1) of hippocampus, which may account for associative memory deficits in non-demented people with mild cognitive impairment (MCI). To test this hypothesis *in vivo*, we investigated whether volume changes in these regions are related to failures in associative memory in MCI as compared to cognitively normal (CN) elderly subjects. Volume changes in EC and hippocampal subfields were determined by using deformation-based morphometry techniques applied to probabilistic cytoarchitectonic maps derived from *post mortem* human brains. CN subjects were distinguished from MCI patients by firstly identifying local volume differences in EC and hippocampus, and then evaluating the way in which these anatomical changes correlated with performance in a non-intentional face-location association task. MCI patients not only performed worse than CN elders in building new associations, but they were further unable to benefit from semantic encoding to improve episodic binding. According to our initial hypothesis, local volume reductions in both EC and hippocampal CA accounted for group differences in associative memory whereas atrophy in CA, but not in EC, accounted for semantic encoding of associations. Two main conclusions can be drawn from the present study: i) access to semantic information during encoding does not reduce the episodic deficit in MCI; and ii) EC and hippocampal CA, two regions early affected by AD neuropathology, are responsible, at least partially, for associative memory deficits observed in MCI patients.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

The cognitive status that fills the gap between normal aging and AD is known as MCI. These subjects show objective memory deficits within a context of normal global cognition and daily functioning, and they have an increased risk of developing AD (Petersen et al., 2001) by four-fold when compared to CN elderly persons (Ganguli et al., 2004). MCI patients are primarily affected by the inability to encode and retrieve contextual aspects of memory. In particular, they have difficulty in remembering relations among items or between an item and its context (associative memory) rather than individual items (Troyer et al., 2008). For instance, if a man with MCI meets a woman in a party and several months later he finds this person walking down the road, he may recognize her but likely will be unable to remember when and where they met for the first time. This finding is not surprising if we consider that the pathological features commonly associated with AD originate years before diagnosis in regions of the medial temporal lobe

(MTL) that are mainly responsible for the formation of associations (Haroutunian et al., 2009).

The contribution of MTL to associative memory seems to be unquestionable, but the role of specific MTL structures to different memory processes (Squire et al., 2004) is still under debate. Although most memory models have proposed that encoding and retrieval of associations is mediated by the CA3 region, animal evidence suggests that this subfield, together with CA1 and dentate gyrus (DG), could also be involved in matching the afferent input from EC with retrieval of associations (Hasselmo, 2005; Lee et al., 2005). The role of hippocampus in associative memory seems to be further supported by context sensitive neurons located in EC layer II (Eichenbaum and Lipton, 2008), which may provide a neural substrate to bind hippocampal representations with a particular context (Lipton et al., 2007).

Since both the EC and hippocampal subfields are targets of incipient lesions in AD, atrophy of these regions may account for associative memory deficits prior to dementia. In particular, *post mortem* studies have revealed that neurofibrillary tangles are first evident in trans-entorhinal pre-alpha neurons and quickly spread to the EC (Braak and Braak, 1991; Gómez-Isla et al., 1996). From there, the tangle formation spreads towards the SB and region CA1, and then

* Corresponding author at: Laboratory of Functional Neuroscience, University Pablo de Olavide, Carretera de Utrera Km 1, 41013 Seville, Spain. Fax: +34 954 349151.

E-mail address: matirui@upo.es (M. Atienza).

to CA2 and CA3 (Schönheit et al., 2004). *In vivo* computational neuroanatomy analysis techniques not only have supported this pattern of neural degeneration (Apostolova et al., 2006a) but have also shown that morphological changes in CA1 and subiculum in persons with MCI are predictive of later conversion to AD (Apostolova et al., 2006b; Wang et al., 2006).

Based on evidence reviewed above, we hypothesize that volume changes in EC but mainly in hippocampal CA regions, may account for associative memory deficits reported by MCI patients when compared to CN elderly persons. To test this hypothesis, volume changes were correlated in these regions with memory for face-location associations by using probabilistic cytoarchitectonic maps of the EC and hippocampal subregions obtained from *post mortem* human brains (Amunts et al., 2005). To the best of our knowledge, only one study to date has related associative memory processes to anatomical integrity in both the hippocampus and EC but it was conducted in a longitudinal study with elderly persons without memory complaints (Rodrigue and Raz, 2004). Therefore, disentangling the role of hippocampus and EC on associative memory impairment in early stages of neurodegeneration is a relevant issue that remains to be elucidated not only longitudinally but also with cross-sectional designs.

Studies performed in young adults have shown that associative memory benefits from semantic congruence during encoding, and that this benefit is mediated by amplitude and phase modulations of EEG theta oscillations in regions of the MTL and posterior parietal cortex (Atienza et al., 2011; Crespo-Garcia et al., 2010). Since evidence suggests that semantic memory also requires an intact hippocampus (Manns et al., 2003), a second relevant goal of the present study is to ascertain whether this positive effect of semantic context on episodic memory is preserved in MCI patients, and if not, whether such a deficit is related to volume changes in specific regions of the hippocampus and/or if it also extends to the EC.

The presence of the $\epsilon 4$ allele of the apolipoprotein (ApoE) gene predicts the onset age of AD and neuropathologic progression (Corder et al., 1993; Smith et al., 1998) as well as cognitive decline in CN (Deary et al., 2002; Mayeux et al., 2001; Nilsson et al., 2006), MCI (Cosentino et al., 2008; Farlow et al., 2004) and AD (Martins et al., 2005) subjects. Nevertheless, the outcome of the memory prediction is not consistent across studies, particularly when examined cross-sectionally, neither is the impact of ApoE genotype on hippocampal volume in non-demented subjects. Results from these studies suggest that the presence of ApoE $\epsilon 4$ increases the rate of hippocampal atrophy over time not only in healthy elders (Jak et al., 2007) but also in MCI and AD (Hua et al., 2008). However, only a few studies combined hippocampal volumetry, ApoE genotype and memory in CN elderly persons (Adak et al., 2004; Lind et al., 2006; Tupler et al., 2007; Ystad et al., 2009), some of which reported contradictory results. To further address this issue, and based on the assumption that EC and/or hippocampal integrity is related to associative memory deficits, we tested whether this relationship is influenced by the presence of the ApoE $\epsilon 4$ in MCI patients.

Methods and materials

Subjects

The study was conducted according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki and approved by the Ethical Committees for Clinical Investigations and Human Research at the University Hospital Virgen del Rocío and the University Pablo de Olavide, respectively.

Twenty-nine CN elderly subjects and 32 amnesic MCI patients provided signed informed consent to participate in the study. The two groups were matched for age, gender and years of education. The demographic characteristics and neuropsychological profile are shown in Table 1. The influence of ApoE $\epsilon 4$ was studied in the MCI group, because only two CN participants showed the $\epsilon 4$ allele ($\epsilon 4+$). In the MCI group, 1 subject was homozygote for ApoE $\epsilon 4$, 15 were heterozygote ($\epsilon 3/\epsilon 4=13$; $\epsilon 2/\epsilon 4=2$), and the remaining patients were $\epsilon 4$ negative ($\epsilon 4-$) ($\epsilon 3/\epsilon 3=14$; $\epsilon 2/\epsilon 3=2$).

The diagnosis of MCI was based on consensus criteria (Petersen et al., 1999): 1) subjective memory complaints confirmed by the informant, 2) objective memory failures evidenced by scores at least 1.5 standard deviations below average for their age on measures of either immediate or delayed free recall provided by the Spanish version of the Logical Memory subtest (WMS-III) (Wechsler, 1997), 3) clinical dementia rating (CDR) global score of 0.5, 4) normal independence function, judged both clinically and by means of interview for deterioration in daily living activities validated in the Spanish population (Böhm et al., 1998), and 5) not meeting DSM-IV criteria for dementia. Depression was excluded with the Geriatric Depression Scale (Yesavage et al., 1983).

Inclusion criteria for CN participants were (1) absence of subjective memory complaints and objective memory decline on neuropsychological tests, (2) CDR global score of 0 (no dementia), (3) normal independent function judged clinically and by means of the interview for deterioration in daily living activities (IDDD), and (4) no history of neurological, psychiatric disorders, and/or major medical illness.

Subjects taking any pharmacological compound known to effect memory were not accepted as participants in the present study. Individuals with a history of stroke and/or significant cerebrovascular conditions, clinically significant sensory impairment, neurological conditions such as epilepsy, traumatic brain injury, and brain tumors, presence of neuropsychiatric disorders, past or current alcohol abuse were also excluded from the study.

Evaluation of associative memory

The experimental paradigm used to assess associative memory has been described in detail elsewhere (Atienza et al., 2011; Crespo-Garcia et al., 2010). Briefly, after an incidental encoding phase, participants performed a conceptual priming task and a visuospatial association memory test (Fig. 1).

Table 1
Demographics and neuropsychological profile.

	CN (n = 29)	MCI (n = 32)	P<	MCI $\epsilon 4+$ (n = 15)	MCI $\epsilon 4-$ (n = 17)	P<
Age, yr (M \pm SD)	66.6 \pm 5.1	69.1 \pm 6.1	0.09	69.5 \pm 6.0	68.7 \pm 6.3	0.7
Gender, (F/M)	16/13	14/18	0.4 ^a	9/6	5/12	0.1 ^a
Education (years)	9.0 \pm 2.9	8.9 \pm 3.2	0.9	9.3 \pm 3.6	8.6 \pm 2.9	0.5
MMSE (M \pm SD)	28.4 \pm 1.3	26.9 \pm 2.5	0.003	26.6 \pm 2.6	27.1 \pm 2.5	0.6
CDR (sum of boxes)	0	0.5	NA	0.5	0.5	NA
Immediate recall (M \pm SD)	14.2 \pm 3.0	9.5 \pm 2.3	10 ⁻⁸	8.9 \pm 2.4	10.0 \pm 2.1	0.2
Delayed recall (M \pm SD)	13.2 \pm 2.7	6.6 \pm 3.4	10 ⁻¹⁰	6.2 \pm 3.3	6.9 \pm 3.5	0.6

yr = years; M \pm SD = mean \pm standard deviation; F/M = female/male.

^a p-value derived from a chi-square test.

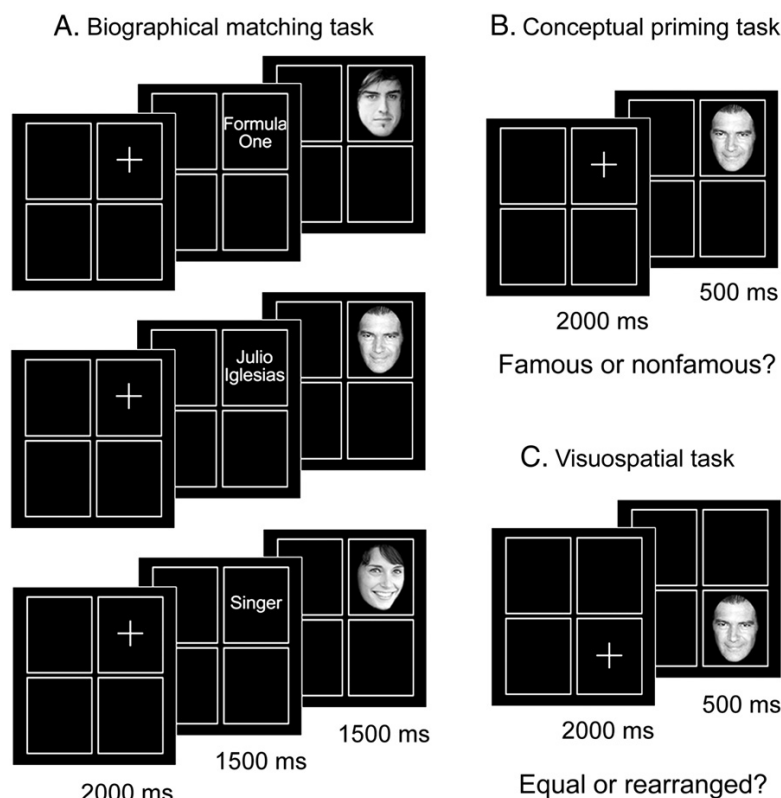


Fig. 1. Schematic representation of the different tasks used to evaluate associative memory. (A) The biographical matching task presented during the study phase included three experimental conditions: semantically congruent/incongruent famous faces and nonfamous faces. Biographical cues only matched famous faces in the semantically congruent condition. (B) Conceptual priming memory task. Faces are presented in the same location as in the study phase without any preceding biographical cue. Subjects are required to respond if they believe that faces belong to famous or nonfamous individuals. (C) Visuospatial memory task. Half of the faces are presented in the same location as in the previous two phases, and the other half are presented in a different location. For each face, participants are required to identify whether it matches the previous location.

During the study phase, participants were presented with 64 famous and 32 nonfamous faces in a specific quadrant of the computer monitor. Each face was preceded by either three congruent or incongruent biographical cues (name, profession and profession-related information) in different trials. Participants were instructed to respond whether or not the face was semantically congruent with the cue by pressing a button in the response box. Next, participants performed a conceptual priming task, where they were asked to identify as accurately and quickly as possible whether each face, displayed in the same location as before, was from a famous or nonfamous individual. Finally, faces were presented again without any preceding cue in the visuospatial memory task, either at the same location as in previous phases or at any of the three remaining locations. For each face, participants were asked to identify as quickly and accurately as possible whether or not the faces matched the previous location. As long as congruent semantic processing is advantageous for episodic encoding, location of semantically congruent faces will be remembered better and faster than position of either incongruent or nonfamous faces.

Apolipoprotein E genotyping

DNA was extracted from peripheral blood using short proteinase K digestion. The presence of the $\epsilon 4$ allele was determined by PCR (polymerase chain reaction) amplification of the polymorphic fragment of the ApoE gene, and digested by the restriction enzyme CfoI (Wenham et al., 1991).

MRI acquisition and pre-processing

Two 3D T1-weighted magnetization-prepared rapid gradient echo (MP-RAGE) images (repetition time = 8.5 ms, echo time = 4 ms, flip angle = 8° , matrix dimensions 256×192 , 184 contiguous sagittal 1.2-mm-thick slices, and time per acquisition = 5.4 min) were acquired on a whole-body Philips Intera 1.5-T MRI scanner (Philips, The Netherlands), and averaged after motion correction.

MRI data were processed by using statistical parametric mapping (SPM5, Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk>). Skull-stripping was performed with Freesurfer v.4.2 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>) for each previously averaged brain volume by using a hybrid approach that combines watershed algorithms and deformable surface (Segonne et al., 2004). Inaccuracies like removal of non-brain tissues, particularly dura, and brain tissue erosions were manually corrected as part of this preprocessing step. Resultant individual images were linearly normalized to the single-subject MNI canonical brain space (Colin27) (Collins et al., 1994), and partitioned into different tissue classes (gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid) (Ashburner and Friston, 2005).

Tensor-based morphometry (TBM) and DARTEL

TBM was used to identify local volume changes relative to a common anatomical template. To this aim, gray- and white-matter images were registered to their average by using an efficient algorithm implemented

in SPM5 for diffeomorphic image registration (DARTEL) that minimizes anatomical variations between individual MR images (Ashburner, 2007). DARTEL is a highly automatic procedure that involves construction of an unbiased average template iteratively starting from an affine average. MR images are non-rigidly registered to the average image obtained in the previous iteration. This procedure comprises 6 iterations, but only the average obtained in the last iteration is used to identify volumetric tissue differences (we will refer to this image from now on as the *group template*). For each subject, an independent Jacobian matrix field is extracted from the gradients of the non-linear DARTEL deformation field that aligns each individual image to the group template. Next, the determinant of the local Jacobian matrix is derived from the forward deformation field to determine volume changes

relative to the group template. As the Jacobian determinant of a diffeomorphic map is bounded below by zero but unbounded above, Jacobian values were logarithmic transformed prior to the analysis to better fit their statistical distribution to a symmetric distribution. If the determinant is positive, the volume in the individual image is larger than in the group template, whereas if negative volume in the individual image is smaller. A schematic representation of this methodological approach is illustrated in Fig. 2.

Probabilistic cytoarchitectonic maps of EC and hippocampus

Limits of hippocampal subregions and EC were obtained by using probabilistic maps based on cytoarchitectonic delimitations derived

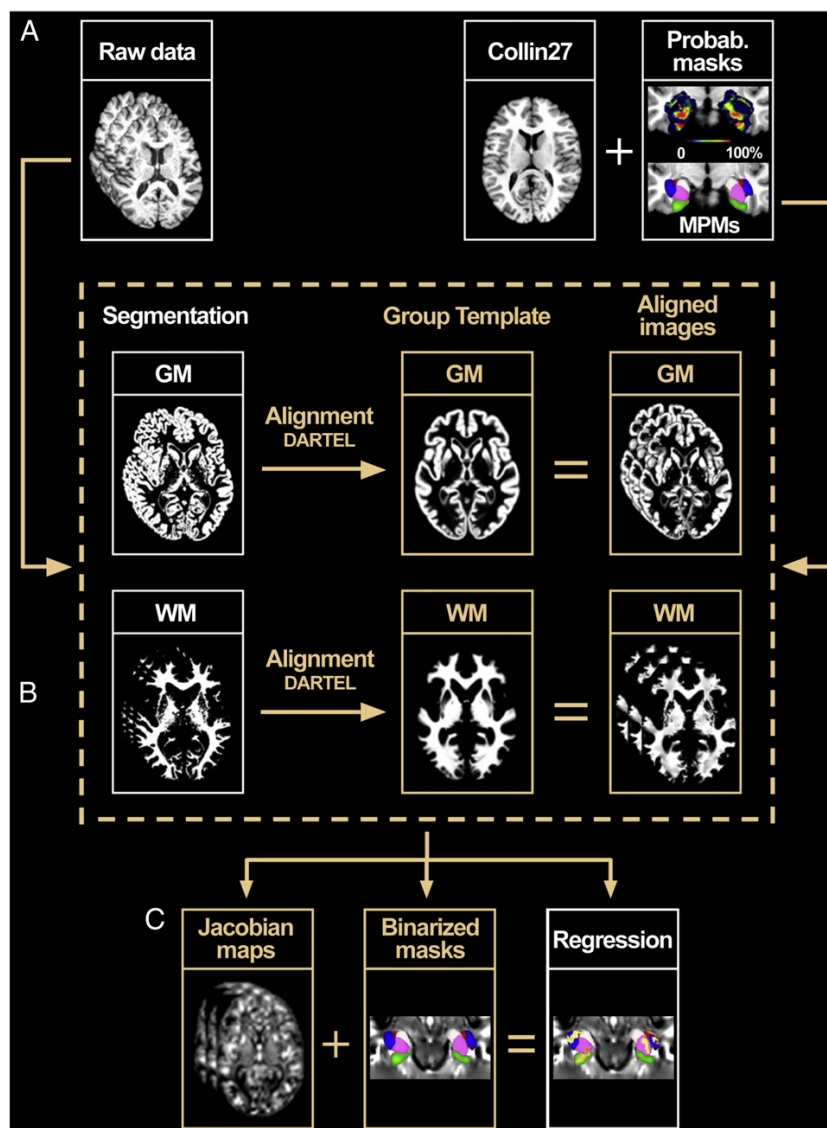


Fig. 2. Flowchart displaying a scheme of TBM and DARTEL. (A) The whole analytical procedure was applied to each individual raw T1 MRI scan shown on the left column and to the maximum probability maps (MPMs) of EC (green) and hippocampus (cornu ammonis in blue, dentate gyrus in red, and subiculum in pink) shown on the right column. (B) All the boxes in yellow refer to the DARTEL and TBM steps. After linearly normalizing each image to the MNI space (Collin27), they were partitioned into different tissue classes: gray matter (GM), white matter (WM), and cerebrospinal fluid. GM and WM maps were then registered to their average by using DARTEL. (C) Jacobian determinant maps were derived from the DARTEL flow fields and analyzed to determine volumetric changes within the EC and hippocampal subfields.

from 10 *post mortem* human brains (Amunts et al., 2005). The hippocampus comprised the following structures: CA, including CA1, CA2, and CA3 subfields; DG, including fascia dentata and the CA4 subfield; and SB, including the prosubiculum, subiculum proper, presubiculum and parasubiculum. Probability maps were separately calculated for each of the above subregions. Each cytoarchitectonic structure was 3D reconstructed, and registered to the single-subject template of the MNI space. These maps indicate the relative frequency with which a cerebral structure was present in each voxel of the anatomical MNI space. To avoid overlapping between volumes of interest, a summary map was computed from the EC and every hippocampal probabilistic map defining the most likely cytoarchitectonic area at each voxel. The outcome of this procedure is known as the *maximum probability map* (MPM) (Eickhoff et al., 2005, 2006) and can be derived from the Anatomy toolbox v1.6 implemented on SPM5 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm). Fig. 3 shows a coronal section of the MPMs for the EC, SB, DG and CA.

Regional voxel-wise statistical analysis

Two measurements were obtained from the visuospatial memory task: (i) an index of global associative memory as indicated by d' in the visuospatial memory task, regardless of whether faces were presented in a semantically congruent or incongruent context during the study phase (*associative d'*); and (ii) an index that quantifies gains in associative memory as a result of semantic congruence as revealed by differences in d' between semantically congruent and semantically incongruent famous faces (*semantic d'*).

Two independent regression analyses were conducted, one for each memory index. The group (CN, MCI), age, total volume of the whole probabilistic mask, and the corresponding performance index were included as regressors in the general linear model. Performance regressors were split into two groups to test (F -contrasts) differences between groups (CN, MCI) in the way performance correlated with volume variations within the EC and/or the hippocampus. Multiple testing across voxels was corrected by setting the false discovery rate (FDR) at $q = .05$. These analyses were also conducted in MCI patients to evaluate the influence of the ApoE $\epsilon 4$. The group regressor included MCI $\epsilon 4+$ ($n = 15$) and $\epsilon 4-$ ($n = 17$). As no significant differences in the volume were found between $\epsilon 4$ carriers and noncarriers, regression analyses were conducted over the whole EC/hippocampal mask.

Behavioral analysis

Mean reaction times (RTs) were calculated for correct responses to intact face-location associations (hits) and to rearranged face-location associations (correct rejections). Measures of recognition perform-

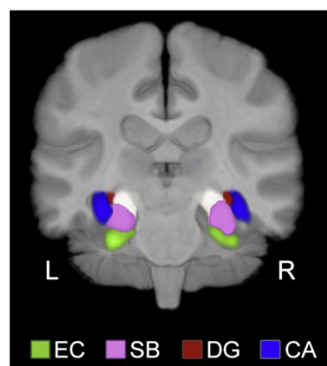


Fig. 3. Coronal section of maximum probability maps of the entorhinal cortex (EC) and hippocampal subregions such as subiculum (SB), dentate gyrus (DG) and cornu ammonis (CA).

ance (d') were derived from signal detection analysis of the individual subject's behavioral responses. For both *associative* and *semantic d'* , this index was defined as the z -score for the hit rate minus the z -score for the false alarm rate. The impact of semantic congruence on recognition memory (accuracy) and speed of response was first evaluated by a two-way mixed analysis of variance (ANOVA) with semantic congruence (congruent faces, incongruent faces, nonfamous faces) as the within-subject factor, and the group (CN and MCI) as the between-subject factor. A second mixed ANOVA was computed for each dependent variable including different demographic variables as covariates (age, gender, years of education, MMSE, ApoE). Each covariate was independently tested for statistical inference, and only significant covariates ($P < .05$) were included in the final model (ANCOVA). Mauchly's W was computed to check for violations of the sphericity assumption, and Greenhouse–Geisser correction was applied. Homogeneity of variance was evaluated with the Levene test. Pair-wise comparisons (t -tests) were performed to evaluate main and interaction effects.

RT and accuracy were also evaluated by using the general linear model to determine the effect of semantic congruence while sorting the faces as famous or nonfamous in the conceptual priming task. In this case, only semantically congruent and incongruent faces were introduced as experimental conditions and the above-mentioned regressors as nuisance variables.

Results

Behavioral results

MCI patients showed significant impairment in the visuospatial memory task (*associative d'*) when compared to CN elders after controlling for age ($F_{1,58} = 8.4$; $P < .005$). The regression analysis with *semantic d'* revealed a significant contribution of age in the CN group ($\text{Beta} = .42$; $t = 2.45$; $P < .03$) and a significant contribution of ApoE $\epsilon 4$ in the MCI group ($\text{Beta} = -.36$; $t = -2.18$; $P < .04$). Accordingly, we performed a mixed ANCOVA, with age and ApoE $\epsilon 4$ as confounding factors, and found a positive effect of semantic congruence on memory for face-location associations ($F_{2,114} = 3.8$; $P < .04$; $\epsilon = .8$). However, this benefit was markedly reduced in MCI patients as suggested by the *post hoc* analysis of the significant interaction effect ($F_{2,114} = 4.1$; $P < .03$; $\epsilon = .8$). As illustrated in Fig. 4A, only remembering faces encoded under semantically congruent conditions distinguished MCI from CN subjects ($P < .02$).

To determine whether the presence of $\epsilon 4$ in MCI patients could have an impact on associative memory performance, we tested group differences for both *associative d'* and *semantic d'* . Results showed that episodic memory in MCI $\epsilon 4$ -noncarriers (mean \pm standard error of the mean; $.32 \pm .10$) benefits more from semantic encoding ($P < .03$) than $\epsilon 4$ -carriers ($-.05 \pm .11$). Global accuracy was also better in the former ($.65 \pm .13$) than in the latter ($.33 \pm .11$), although differences did not reach statistical significance ($P < .07$).

As shown in Fig. 4B, both CN and MCI subjects responded faster to semantically congruent than incongruent faces ($F_{2,118} = 13.7$; $P < 10^{-4}$; $\epsilon = .7$), although this effect was restricted to faces shown in the same location as in the study phase ($F_{2,118} = 28.3$; $P < 10^{-8}$; $\epsilon = .8$). However, RT did not benefit from semantic congruence when MMSE was added to the model as covariate.

The reduced effect of semantic congruence on episodic memory in MCI patients was not apparently caused by a deficit preventing automatic access to semantic information because MCI and CN subjects showed faster (~ 40 ms) and more accurate (35%) responses to semantically congruent than incongruent faces during the conceptual priming task. However, the gain associated with semantically congruent faces was higher for CN than for MCI patients as suggested by the significant interaction effect revealed by the ANOVA with accuracy ($F_{1,59} = 10.3$; $P < .002$) but not with RT. The presence or

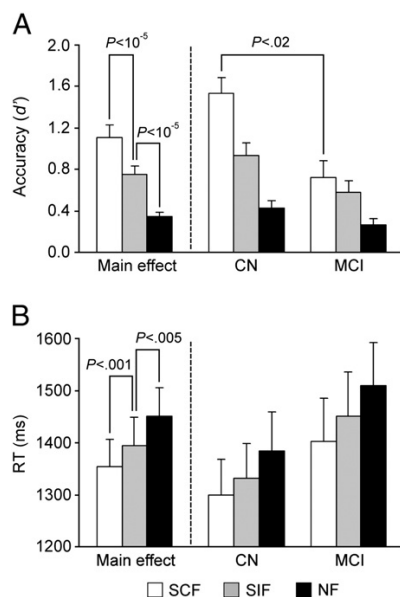


Fig. 4. Effects of semantic congruence on behavioral responses considering both populations together ($N=61$), only CN subjects ($n=29$), and only MCI patients ($n=32$). (A) Average accuracy (d') in the three conditions: semantically congruent faces (SCF), semantically incongruent faces (SIF) and nonfamous faces (NF) during the visuospatial memory task. (B) Average reaction times (RT) in the same three conditions as in (A). Note that group differences in accuracy were restricted to SCF as revealed by the significant interaction effect and subsequent t -tests performed on each level of the congruence factor.

absence of the $\epsilon 4$ allele made no difference in the beneficial effects of congruence.

Group differences for the congruent condition in the visuospatial task were not due to the fact that these faces could be more familiar for CN than for MCI patients. Accordingly, the two groups performed similarly and their reaction times were equally fast in the biographical matching task. In order to discard that group differences in the visuospatial task could be due to the different amount of faces correctly recognized during encoding, we repeated the statistical analyses only including those trials for which subjects had given correct responses in the biographical task. The ANCOVA with congruence (SCF, SIF) as within-subject factor, group as between-subject factor, and age as covariate revealed a significant interaction effect ($F_{1,58}=5.2, P<.03$). The post hoc analysis confirmed significant group differences only for SCF ($P<.004$).

Local volume differences between groups

The t -test revealed group differences in local brain volume between CN and MCI patients, but no significant differences were found when MCI $\epsilon 4$ -noncarriers were compared to $\epsilon 4$ -carriers. Although MCI patients showed marked volume reductions that spread over approximately 40% of bilateral CA (Table 2), these differences also extended to EC mainly in the right hemisphere (35% versus 12% in the left hemisphere) and to the remaining hippocampal subfields on the two sides (at about 36% of SB and 70% of DG). These local volume differences are illustrated in Fig. 5.

Relationship between volume differences and episodic memory

Regression analyses with associative d' revealed no significant correlations in either CN or MCI patients, but the two groups showed significant differences in the way volume changes in specific regions

of hippocampus/EC correlated with performance (Table 2). For CN subjects, volume expansion in bilateral CA and right EC corresponded to increased associative memory. The area affected by this result was 6% for CA and about 3% for right EC. Fig. 6 illustrates the specific location of these correlation differences as well as the slopes of regression lines for each group when considering the voxel showing maximum correlation in each region of interest. Probabilistic cytoarchitectonic maps used in the present study did not allow us to distinguish among different CA subfields. However, results illustrated in coronal sections of CA (Fig. 7) suggest that significant between-group differences were mainly located in CA1 hippocampal subfield in the left hemisphere and in CA1–CA2 transition in the right hemisphere, although significant effects in CA3 cannot be discarded.

As mentioned above, MCI patients did not benefit from semantic knowledge to build episodic associations between the face and spatial location. In line with this result, the two groups showed significant differences in the correlations with semantic d' (Table 2 and Fig. 6). Only the CA hippocampal subregion was affected by the stronger positive correlation shown by CN as compared to MCI patients (left = 5.8%; right = 11.3%). As for the associative d' index, no significant correlation was observed within either group.

The introduction of the ApoE $\epsilon 4$ in the model revealed no significant correlations between volume changes and performance for any memory score and for any contrast (across, within or between groups).

Relationship between volume differences and semantic priming

Regression analyses performed between volume changes and semantic priming (d' derived from responses to famous faces encoded under either semantically congruent or incongruent contexts, and from responses to nonfamous faces in the semantic priming task) yielded no significant effects. However, significant effects were observed when P values uncorrected for multiple comparisons were used (both at the level of voxel and cluster). In particular, we found that the priming effect was positively correlated with the right EC volume. This result derives from significant across group correlations for semantically congruent faces, and from the absence of such correlation for semantically incongruent faces (Table 3). Nevertheless, when regression was performed within each group separately, only MCI patients showed these positive correlations with performance, and this effect was independent of whether faces had been encoded under semantically congruent or incongruent contexts. Interestingly,

Table 2

Volume differences between CN and MCI patients and their relationship with performance in associative memory.

	Side	CS	Coordinates			T/r	Z	P_{FDR}
			x	y	z			
<i>t</i> -test								
CN > MCI $T_{>2.15}$								
CA	L	5122	-19	-11	-16	5.74	5.10	.002
CA	R	6434	24	-11	-21	5.51	4.93	.002
<i>Regression with associative d'</i>								
CN > MCI $T_{>2.69}$								
CA	L	398	-31	-17	-22	.52	4.23	.015
CA	R	501	33	-16	-22	.51	4.20	.015
EC	R	165	23	3	-29	.45	3.64	.019
<i>Regression with semantic d' after controlling for associative d'</i>								
CN > MCI $T_{>2.62}$								
CA	R	836	35	-28	-9	.50	4.07	.014
CA	L	344	-27	-18	-18	.44	3.51	.015

CS = cluster size; coordinates are in the MNI space and represent the peak-effect within the cluster; P_{FDR} = p -value for voxels corrected with false discovery rate; EC = entorhinal cortex; CA = cornu ammonis; MCI = mild cognitive impairment; CN = cognitively normal elderly subjects; R = right; L = left.

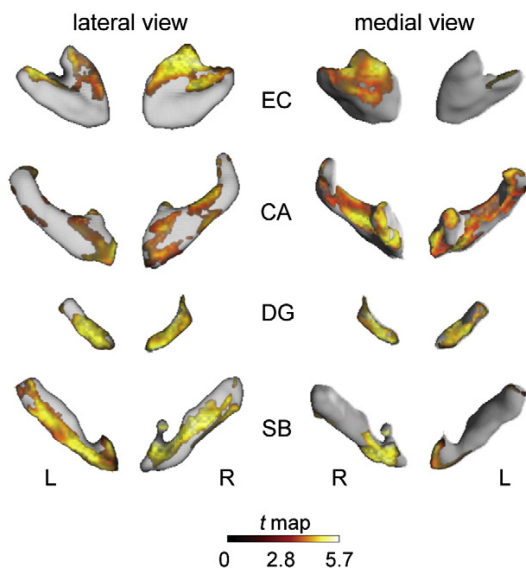


Fig. 5. Local volume reduction in patients with mild cognitive impairment (MCI) as compared to cognitively normal (CN) elderly subjects. Volume differences for the right (R) and left (L) hemispheres are shown in lateral and medial views of the 3D rendering probabilistic maps of entorhinal cortex (EC), cornu ammonis (CA), dentate gyrus (DG), and subiculum (SB). The color scale indicates variations in the t statistic.

volume reductions of CA were associated with increased priming as revealed by significant negative correlations within MCI and by significant differences between groups (CN>MCI, see Table 3).

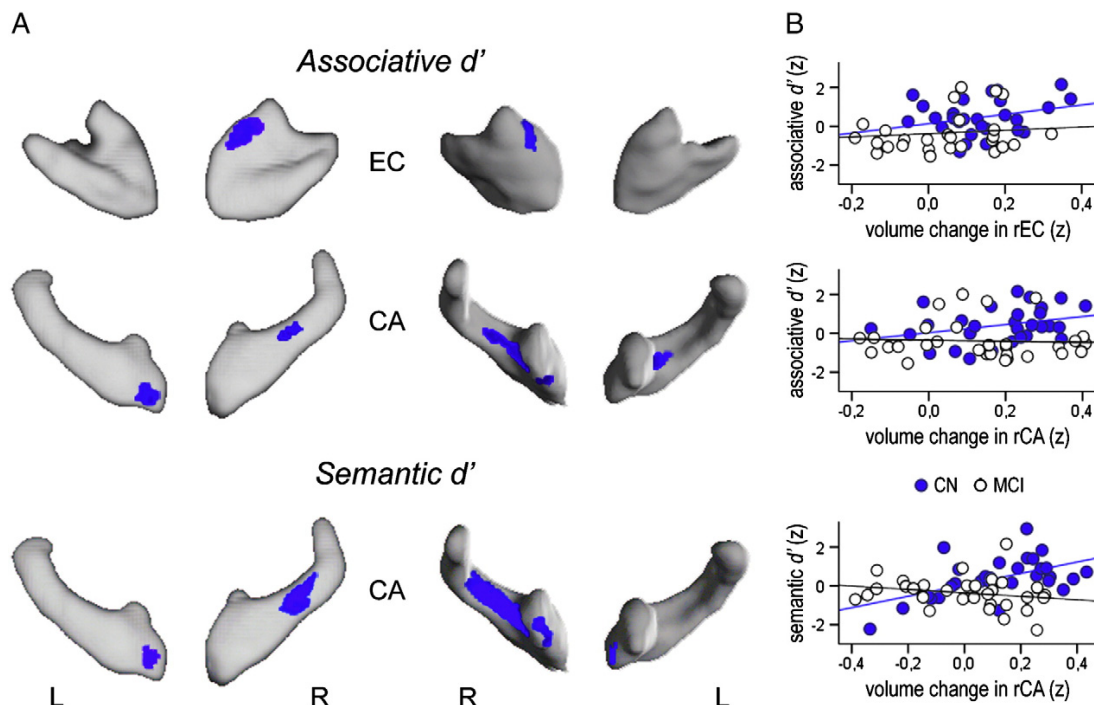


Fig. 6. (A) Results from voxel-wise between-group correlations. 3D rendering of probabilistic maps of entorhinal cortex (EC) and cornu ammonis (CA) depicting areas of significant differences between groups (CN>MCI) in the way volume changes correlated with *associative d'* and *semantic d'* (lateral view on the left and medial view on the right). The color scale indicates variations in the t statistic. (B) Scatter plots illustrating results from the voxel showing maximum differences in the way volume changes in entorhinal cortex (EC) and cornu ammonis (CA) correlated with memory scores (*associative d'* and *semantic d'*) in cognitively normal (CN) elderly subjects (blue circles) and patients with mild cognitive impairment (MCI, empty circles). The MNI coordinates of each voxel represented in the scatter plots are shown in Table 2.

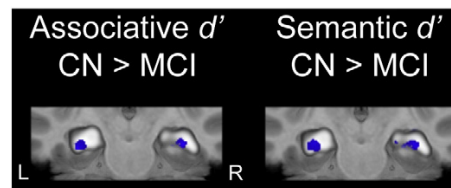


Fig. 7. Coronal section of the probabilistic map of cornu ammonis (CA) overlapped with results from voxel-wise between-group correlations with *associative d'* and *semantic d'*. Note that results obtained with the regression analysis suggest that left CA1 and right CA1–CA2 transition presumably reflect the hippocampal CA subfields mainly responsible for associative memory failures in MCI patients.

Discussion

The present study provides two important novel findings. Firstly, MCI patients are sensitive to semantic information, but they are unable to use this knowledge to improve episodic binding, especially when they are at genetic risk of developing AD. Secondly, atrophy of the target regions, early affected by AD neuropathology, is associated with failures shown by MCI patients in building new episodic associations.

MCI do not benefit from semantic encoding in the formation of new associations

Semantic memory impairment is well documented in AD (e.g., Chertkow and Bub, 1990; Hodges and Patterson, 1995) but few studies have reported similar deficits in MCI (e.g., Joubert et al., 2010).

Table 3
Relationship between performance in the semantic priming task and volume changes over EC and hippocampal subregions for CN and MCI patients.

	Side	CS	P_{cs}	Coordinates			r	Z	P_{vox}
				x	y	z			
<i>Regression with semantically congruent faces</i>									
Between groups $T > 1.67$									
CA	R	837	0.01	34	-17	-16	0.46	3.76	10^{-4}
Across groups $T > 1.67$									
EC	R	466	0.01	21	1	-34	0.40	3.18	0.001
Within MCI $T > 1.67$									
EC	R	562	0.01	21	1	-34	0.46	3.72	0.001
CA	R	704	0.01	31	-19	-14	-0.42	3.35	0.001
<i>Regression with semantically incongruent faces</i>									
Between groups $T > 1.67$									
CA	R	278	0.03	34	-17	-16	0.40	3.18	0.001
Within MCI $T > 1.67$									
EC	R	586	0.01	22	1	-34	0.46	3.68	0.001

CS = cluster size; P_{cs} = p-value for clusters uncorrected; coordinates are in the MNI space and represent the peak-effect within the cluster; P_{vox} = p-value for voxels uncorrected; EC = entorhinal cortex; CA = cornu ammonis; MCI = mild cognitive impairment; CN = cognitively normal elderly subjects; R = right; L = left.

Although evidence suggests that both intentional and automatic access to semantic knowledge may be affected in AD, it seems that intentional access is impaired earlier in the course of the illness (Duong et al., 2006). Indeed, the authors reported that these two kinds of semantic access were impaired in AD whereas MCI patients only showed abnormal performance on intentional tasks. In line with these results, we have shown that MCI and CN elders were able to automatically access semantic information from long-term memory. However, only CN elders, but not MCI patients, were able to benefit from this information during recognition of associations.

In agreement with these results, cued recall was found to be markedly impaired in MCI patients when they were instructed to perform a semantic categorization task during encoding, but it remained intact when no orientation was provided (Belleville et al., 2002). Similarly, persons with reversible cognitive impairment, contrary to MCI (Perri et al., 2005), showed better memory performance when they were allowed to use semantic strategies during encoding (Perri et al., 2009). All together, these results suggest that MCI patients have noticeable deficits at encoding. As suggested by Belleville et al. (2008), these deficits might be due to the inability to perform contextual binding between elements that constitute the episode. According to this hypothesis, Hanseeuw et al. (2011) reported hippocampus hypoactivation in MCI relative to CN subjects during associative encoding after correcting for hippocampal atrophy. We believe that the present results also provide empirical evidence for ineffective associative encoding.

Executive function impairment may have contributed to this special difficulty in binding together the face, the related semantic information and the spatial location. In fact, executive dysfunction has been associated with poor intentional access to semantic knowledge in AD (Daum et al., 1996; Perri et al., 2003). Accordingly, MCI patients may show difficulties in inhibiting semantic search during encoding, both while processing semantically congruent and incongruent faces but especially in the latter condition, which would make face–location association difficult and would account for the low effect of congruence during recognition. Semantic search is expected to be more intense and to last longer in MCI than in CN elders based on the fact that knowledge of famous people is impaired in MCI relative to other categories of conceptual knowledge (Estevez-Gonzalez et al., 2004). However, this hypothesis seems unlikely if we take into account that no group differences were found when subjects performed the biographical matching task, and that similar results were obtained in the visuospatial task when only trials for which participants gave correct responses during encoding were included in the analysis.

Considering that automatic access to semantic information may be also useful for associative recognition, we cannot disregard a deterioration of semantic memory as a plausible explanation for the poor behavioral results shown by MCI in the visuospatial task. This line of reasoning receives support from the decreased priming effect observed in MCI relative to CN elders, and from the positive correlation found in MCI between EC/hippocampal volume changes and performance in the semantic priming task. Although one must be cautious when interpreting these results because P values were not corrected for multiple comparisons, they were in accordance with previous fMRI studies that support the role of the medial temporal lobe (including the hippocampal formation, EC, perirhinal and parahippocampal cortices) in memory for person identity (e.g., Elfgrén et al., 2006; Tsukiura et al., 2008). Contrary to the positive correlation with EC volume loss, the negative correlation with volume reduction in CA may seem paradoxical, but there is strong evidence suggesting that AD patients tend to show abnormally increased priming before falling. Although this result could be attributed to general cognitive slowing, this interpretation is unlikely in our case because no differences in RT were observed between the two groups. Alternatively, the trend to negative correlation between semantic priming and CA volume in MCI may indicate deficits in attentional strategies (Bell et al., 2001), or even be an early sign of semantic disintegration (Giffard et al., 2001, 2002).

Finally, we cannot rule out the hypothesis that group differences may have been influenced, at least partially, by item-memory deficits because we did not introduce any control for this kind of memory. However, several lines of evidence make this hypothesis unlikely. Firstly, post hoc analyses of the group \times congruence interaction revealed significant group differences in performance of the visuospatial task only for semantically congruent famous faces. Secondly, group differences in the way memory impairment correlated with volume changes in EC and hippocampus were lateralized to the right hemisphere. Right lateralization is typically observed when associative memory is compared with item memory in the hippocampus during encoding and in the hippocampus and EC during retrieval (Kirwan and Stark, 2004; Tsukiura et al., 2008). And thirdly, associative memory not only has been found to be impaired beyond single-item memory in MCI (Troyster et al., 2008) but also to be correlated with hippocampal volume loss in these patients contrary to item memory (Hanseeuw et al., 2011).

Interestingly, our results also revealed a significant impact of the ApoE $\epsilon 4$ on memory performance. MCI $\epsilon 4$ -carriers not only performed worse than noncarriers in the visuospatial task, but also benefited to a lesser extent from semantic encoding in the formation of new associations. These findings receive further support from a recent study in which mild AD $\epsilon 4$ -carriers showed greater impairment on measures of memory retention, whereas noncarriers were more impaired on tests of working memory, executive control, and lexical access (Wolk et al., 2010).

Volume changes in EC and hippocampus are related to associative memory failures in MCI patients

As expected, MCI patients showed volume loss in EC and hippocampus relative to CN elders. Interestingly, DG also showed volume reduction in these patients. DG and CA3 have been related to the ability to segregate overlapping representations, a basic operation in episodic memory, especially when source memory is required. In agreement with this idea, Yassa et al. (2010) not only found volume reduction in the CA3/DG region of hippocampus when MCI patients were compared to a group of CN elders but also increased activation when subjects had to distinguish between similar and identical stimuli relative to the ones presented during encoding. Hyperactivation of the CA3/DG region is interpreted as the result of a neural

mechanism that compensates the partial hippocampal disconnection derivable from atrophy of the EC.

Degeneration of hippocampus and EC is well documented in the course of AD (Apostolova and Thompson, 2008; Thompson et al., 2007), but whether deterioration in different regions of hippocampus and EC contributes to failures of associative memory during preclinical AD stages remains to be elucidated. Hippocampal volume has been linked to delayed recall performance in AD (deToledo-Morrell et al., 2004; Murphy et al., 2003) and MCI patients (Convit et al., 1997; Schmidt-Wilcke et al., 2009; Stoub et al., 2006; Chételat et al., 2003). Similar results have been reported for the EC but mostly when using voxel-wise procedures for statistical inference (Cardenas et al., 2011; Di Paola et al., 2007; Schmidt-Wilcke et al., 2009) but not when using global volume measurements (Du et al., 2003; Reitz et al., 2009; Stoub et al., 2006). Additionally, combination of hippocampal and EC volumes with memory performance were found to increase predictive accuracy of conversion to AD (Devanand et al., 2007). Based on the previous results, we would expect that at least volume changes in hippocampus should account for associative memory deficits in MCI patients. For instance, hippocampal volume loss has been found to correlate with associative but not with single-item memory (Hanseeuw et al., 2011). Unfortunately, the latter study assessed volume changes of hippocampus instead of differences in EC/hippocampal subfields; and correlation was not corrected by age, a variable that strongly impact cognitive and anatomical results.

The present cross-sectional study revealed a stronger positive correlation with the ability to form incidental face–location associations over the right EC and bilateral CA hippocampal subfields in CN rather than in MCI patients. Significant between-group differences were also evident in the CA subregion when correlating anatomical integrity with the ability to compensate associative memory by means of semantic encoding. The lack of significant correlation with episodic memory in MCI patients suggests that critical regions for encoding and retrieval of new associations (EC and hippocampus) are primarily altered in this population at high risk of developing AD.

It is well known that hippocampal damage impairs performance in all types of relational memory (Eichenbaum and Cohen, 2001; Konkeld and Cohen, 2009), even when associations are unconsciously encoded or retrieved (Henke et al., 2003a, 2003b). It is not surprising therefore that the volume of hippocampal CA was related to deficits in the non-intentional face–location association task. The probabilistic cytoarchitectonic maps used in the present study do not allow us to disentangle what CA subfield showed the highest predictive value of memory performance in CN relative to MCI, but results indicated that correlation with the two memory indices differed between the two groups mainly over left CA1 (Fig. 7). However, in the right hemisphere, memory deficits were more associated with volume changes in CA1–CA2 transition (although CA3 cannot be ruled out).

The hippocampal CA1 is not only one of the first regions to be affected by AD neuropathology (Van Hoesen and Hyman, 1990) but its progressive deterioration has also been reported to correlate with the stage and the duration of the illness (Bobinski et al., 1995, 1997). Computational studies of hippocampal atrophy have provided evidence that CA1 degeneration predicts decline to amnesic MCI in cognitively normal individuals (Apostolova et al., 2010) and subsequent conversion to AD (Apostolova et al., 2006b). And consistent with the role of CA1 in memory, synaptic loss (Scheff et al., 2007) and hippocampal radial distance (a measure of hippocampal thickness) in CA1 of MCI subjects (Apostolova et al., 2006a, 2010) were found to be strongly associated with performance on delayed recall. Our study goes a step further suggesting that structural integrity of CA subfields is also related to deficits in associative memory. In agreement with these findings, Staresina and Davachi (2008) found that processes supported by hippocampus contributed to both associative memory and free recall, and that it was the magnitude of the hippocampal activation (higher for free recall) and functional networks located in

prefrontal and posterior parietal cortices which distinguished these two forms of memory retrieval.

To the best of our knowledge, evidence supporting the relationship between EC degeneration and associative memory impairment has never been established in MCI patients by using *in vivo* computational neuroanatomy approaches. However, volume reduction of EC may be evident even when subjects have the feeling of memory worsening but show normal memory performance (Jessen et al., 2006). Furthermore, there is evidence that reduced gray matter density of EC is related to performance on immediate verbal recall (Schmidt-Wilcke et al., 2009), and that volume changes predict conversion to dementia (Apostolova et al., 2010) and memory decline over 1-year in participants who ranged from healthy aging to MCI status (Cardenas et al., 2011). It has been proposed that context sensitivity shown by neurons of the medial EC could play a role in binding hippocampal representations (Lipton and Eichenbaum, 2008). Based on this proposal, the reduced correlation shown by MCI patients relative to CN participants between EC atrophy and global associative processes may indicate a failure in binding faces with semantic and spatial information.

Interestingly, the relationship between impaired associative memory and structural damage seems to be lateralized to the right hemisphere. Indeed, group-differences in the correlations with EC were restricted to this side of the brain, and with hippocampus they were more evident in the right than in the left hemisphere. The right dominance of this effect is in agreement with the role of these regions in the retrieval of faces and related semantic information. For instance, Kirwan and Starck (2004) found increased activation in the right hippocampus, right EC and right parahippocampal gyrus (and left perirhinal cortex as well) when recognition of face–name associations were compared to that of nonassociative information. Tsukiura et al. (2008) also reported higher activation in the right anterior temporal lobe and right hippocampus while participants were successfully retrieving semantic information together with the associated names and faces, or with faces alone, compared to without them. And neuropsychological studies including patients with right anterior temporal lesions also reported specific deficits in the recognition of faces (e.g., Snowden et al., 2004). Therefore, the abnormal relationship between the right dominant atrophy of EC/hippocampus and the impaired associative memory observed in MCI patients relative to CN elders may be accounted for not only by deficient encoding processes but also by deficient retrieval of semantic information from semantically congruent famous faces, the experimental condition in which both the biographical cue and the face matched the same spatial location during encoding.

We also investigated the influence of the ApoE ϵ 4 on the way in which EC/hippocampal volume changes were related to associative memory, although no significant link was observed. This result agrees with previous negative findings (Pievani et al., 2011), but contrary to our study, these authors found significant hippocampal volume loss in ϵ 4-carriers relative to noncarriers and no significant differences in immediate and/or delayed recall. Therefore, their hypothesis that the effect of ApoE ϵ 4 on cognition may depend on severity of the disease is not supported by the present results. In our particular case, memory scores were more sensitive than structural MRI results. Likely, our sample size was too small in number to find significant differences.

Methodological limitations

To determine the role of EC and hippocampal subfields in associative memory, we analyzed volume changes in EC/hippocampal regions defined as the maximum probability map of different probabilistic cytoarchitectonic maps to avoid overlapped and misclassified voxels (Eickhoff et al., 2005, 2006), and by applying a diffeomorphic algorithm (DARTEL) which notably improves the intersubject MRI registration (Ashburner, 2007). Combination of TBM and DARTEL has proved to be sensitive in detecting whole-brain abnormalities in temporal lobe epilepsy (Wenjing et al., 2009), and at

determining volume changes in specific compartments of the basal forebrain cholinergic system in MCI patients (Grothe et al., 2010). In addition, there is evidence that voxel-based morphometry (VBM) in combination with DARTEL provides more accurate results and enable the identification of more localized morphologic alterations than conventional VBM in regions of the MTL in patients with AD and dementia with Lewy Bodies (Takahashi et al., 2010).

But our approach is not free of limitations. To begin with, the age of the ten postmortem human brains was 64.9 years but the standard deviation was 16.9 years (Amunts et al., 2005), which means that age ranged approximately from 37 to 85 years old. Fortunately, the intersubject variability for the masks used in the present study was not as high as would have been expected for allocortical regions. In particular, the individual volumes of hippocampal subfields and EC varied by a factor of 1.7–2 (Amunts et al., 2005). Recently, hippocampal subfields have been delineated in 50 healthy subjects between 19 and 68 years old using a 3 T MRI scanner (La Joie et al., 2010). This study not only provided a submillimetric resolution, but also detailed guidelines for individual hippocampal subfield delineation using an MR-sequence specifically designed for that purpose. Consistent with the developmental hypothesis, only the volume of the subiculum was strongly affected by age, whereas our main results were restricted to areas of the CA hippocampal subfields.

Another important limitation is the lack of validation for automatic probabilistic mapping of MTL regions. Garibotto et al. (2011) reported similar volumes of the caudate, putamen, thalamus and amygdala by using manual delineation and probabilistic maps. In the particular case of the amygdala (cytoarchitectonically defined), the low imaging resolution and the smoothing associated with spatial transformation obligated the authors to include the sum of the three nuclei in the mask (basolateral, centromedial and superficial). The T1 sequence employed in our study (acquired in a 1.5-T MRI scanner) provides neither the resolution nor the contrast required for manually delineating the different hippocampal subfields. Consequently, the boundaries of the manually drawn ROIs would be inevitably associated with a large intra- and inter-observer variability. Under these conditions, we believe cytoarchitectonic maps of human hippocampal subfields partially overcome this drawback.

Conclusions

In summary, results from the present study suggest that a loss of anatomical integrity in the right EC and right CA hippocampal subfields may account, at least partially, for associative memory deficits in MCI patients, whereas the inability to benefit from semantic processing while encoding new episodic associations seems to be more dependent on CA integrity.

Financial disclosures

All authors report no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

Acknowledgments

We are grateful to all participants for their collaboration in this study. We also wish to thank Cyril Pernet for his valuable comments on statistical analysis of brain images, to Simon Eickhoff for his assistance with application of the maximum probability map, and to Maite Crespo-Garcia for technical support. This study was supported by research grants from the Spanish Ministry of Science and Innovation (PSI2008-06141 to MA, SAF2008-03300 to JLC) and the Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise, Junta de Andalucía (CTS-4604 to JLC).

References

- Adak, S., Illouz, K., Gorman, W., Tandon, R., Zimmerman, E.A., Guariglia, R., Moore, M.M., Kaye, J.A., 2004. Predicting the rate of cognitive decline in aging and early Alzheimer disease. *Neurology* 63, 108–114.
- Amunts, K., Kedo, O., Kindler, M., Pieperhoff, P., Mohlberg, H., Shah, N.J., Habel, U., Sheider, F., Zilles, K., 2005. Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anat. Embryol. (Berl.)* 210, 343–352.
- Apostolova, L.G., Thompson, P.M., 2008. Mapping progressive brain structural changes in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychologia* 46, 1597–1612.
- Apostolova, L.G., Dinov, I.D., Dutton, R.A., Hayashi, K.M., Toga, A.W., Cummings, J.L., Thompson, P.M., 2006a. 3D comparison of hippocampal atrophy in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain* 129, 2867–2873.
- Apostolova, L.G., Dutton, R.A., Dinov, I.D., Hayashi, K.M., Toga, A.W., Cummings, J.L., Thompson, P.M., 2006b. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Arch. Neurol.* 63, 693–699.
- Apostolova, L.G., Morra, J.H., Green, A.E., Hwang, K.S., Avedissian, C., Woo, E., Cummings, J.L., Toga, A.W., Jack Jr., C.R., Weiner, M.W., Thompson, P.M., 2010. Automated 3D mapping of baseline and 12-month associations between three verbal memory measures and hippocampal atrophy in 490 ADNI subjects. *Neuroimage* 51, 488–499.
- Ashburner, J., 2007. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *Neuroimage* 38, 95–113.
- Ashburner, J., Friston, K.J., 2005. Unified segmentation. *Neuroimage* 26, 839–851.
- Atienza, M., Crespo-Garcia, M., Cantero, J.L., 2011. Semantic congruence enhances memory of episodic associations: role of theta oscillations. *J. Cogn. Neurosci.* 23, 75–90.
- Bell, E.E., Chenery, H.J., Ingram, J.C., 2001. Semantic priming in Alzheimer's dementia: evidence for dissociation of automatic and attentional processes. *Brain Lang.* 76, 130–144.
- Belleville, S., Chatelet, J., Fontaine, F., Peretz, I., 2002. Memoria: Batterie informatisee d'evaluation de la memoire pour Mac et PC. Institut Universitaire de Geriatrie de Montreal, Montreal.
- Belleville, S., Sylvain-Roy, S., de Boysson, C., Menard, M.C., 2008. Characterizing the memory changes in persons with mild cognitive impairment. *Prog. Brain Res.* 169, 365–375.
- Bobinski, M., Wegiel, J., Wisniewski, H.M., Tarnawski, M., Reisberg, B., Mlodzik, B., de Leon, M.J., Miller, D.C., 1995. Atrophy of hippocampal formation subdivisions correlates with stage and duration of Alzheimer disease. *Dementia* 6, 205–210.
- Bobinski, M.J., Wegiel, J., Tarnawski, M., Bobinski, M., Reisberg, B., De Leon, M.J., Miller, D.C., Wisniewski, H.M., 1997. Relationships between regional neuronal loss and neurofibrillary changes in the hippocampal formation and duration and severity of Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56, 414–420.
- Böhm, P., Peña-Casanova, J., Aguilar, M., Hernandez, G., Sol, J.M., Blesa, R., NORMACODEN Group, 1998. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities. *Int. Psychogeriatr.* 10, 261–270.
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Cardenas, V.A., Chao, L.L., Studholme, C., Yaffe, K., Miller, B.L., Madison, C., Buckley, S.T., Mungas, D., Schuff, N., Weiner, M.W., 2011. Brain atrophy associated with baseline and longitudinal measures of cognition. *Neurobiol. Aging* 32, 572–580.
- Chertkow, H., Bub, D., 1990. Semantic memory loss in dementia of Alzheimer's type. What do various measures measure? *Brain* 113, 397–417.
- Chételat, G., Desgranges, B., de la Sayette, V., Viader, F., Eustache, F., Baron, J.C., 2003. Dissociating atrophy and hypometabolism impact on episodic memory in mild cognitive impairment. *Neurology* 60, 1374–1377.
- Collins, D.L., Neelin, P., Peters, T.M., Evans, A.C., 1994. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 18, 192–205.
- Convit, A., De Leon, M.J., Tarshish, C., De Santi, S., Tsui, W., Rusinek, H., George, A., 1997. Specific hippocampal volume reductions in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 18, 131–138.
- Corder, E.H., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D.E., Gaskell, P.C., Small, G.W., Roses, A.D., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261, 921–923.
- Cosentino, S., Scarmeas, N., Helzner, E., Glymour, M.M., Brandt, J., Albert, M., Blacker, D., Stern, Y., 2008. APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. *Neurology* 70, 1842–1849.
- Crespo-Garcia, M., Cantero, J.L., Pomyalov, A., Boccaletti, S., Atienza, M., 2010. Functional neural networks underlying semantic encoding of associative memories. *Neuroimage* 50, 1258–1270.
- Daum, I., Riesch, G., Sartori, G., Birbaumer, N., 1996. Semantic memory impairment in Alzheimer's disease. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 18, 648–665.
- Deary, I.J., Whiteman, M.C., Pattie, A., Starr, J.M., Hayward, C., Wright, A.F., Carothers, A., Whalley, L.J., 2002. Cognitive change and the APOE epsilon 4 allele. *Nature* 418, 932.
- deToledo-Morrell, L., Stoub, T.R., Bulgakova, M., Wilson, R.S., Bennett, D.A., Leurgans, S., Wu, J., Turner, D.A., 2004. MRI-derived entorhinal volume is a good predictor of conversion from MCI to AD. *Neurobiol. Aging* 25, 1197–1203.
- Devanand, D.P., Pradhaban, G., Liu, X., Khandji, A., De Santi, S., Segal, S., Rusinek, H., Pelton, G.H., Honig, L.S., Mayeux, R., Stern, Y., Tabert, M.H., de Leon, M.J., 2007.

- Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: prediction of Alzheimer disease. *Neurology* 68, 828–836.
- Di Paola, M., Macaluso, E., Carlesimo, G.A., Tomaiuolo, F., Worsley, K.J., Fadda, L., Caltagirone, C., 2007. Episodic memory impairment in patients with Alzheimer's disease is correlated with entorhinal cortex atrophy: a voxel-based morphometry study. *J. Neurol.* 254, 774–781.
- Du, A.T., Schuff, N., Zhu, X.P., Jagust, W.J., Miller, B.L., Reed, B.R., Kramer, J.H., Mungas, D., Yaffe, K., Chui, H.C., Weiner, M.W., 2003. Atrophy rates of entorhinal cortex in AD and normal aging. *Neurology* 60, 481–486.
- Duong, A., Whitehead, V., Hanratty, K., Chertkow, H., 2006. The nature of lexico-semantic processing deficits in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia* 44, 1928–1935.
- Eichenbaum, H., Cohen, N.J., 2001. *From Conditioning to Conscious Recollection: Memory Systems of the Brain*. Oxford University Press, USA.
- Eichenbaum, H., Lipton, P.A., 2008. Towards a functional organization of the medial temporal lobe memory system: role of the parahippocampal and medial entorhinal cortical areas. *Hippocampus* 18, 1314–1324.
- Eickhoff, S.B., Stephan, K.E., Mohlberg, H., Grefkes, C., Fink, G.R., Amunts, K., Zilles, K., 2005. A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage* 25, 1325–1335.
- Eickhoff, S.B., Heim, S., Zilles, K., Amunts, K., 2006. Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps. *Neuroimage* 32, 570–582.
- Elfgren, C., van Westen, D., Passant, U., Larsson, E.M., Mannfolk, P., Fransson, P., 2006. fMRI activity in the medial temporal lobe during famous face processing. *Neuroimage* 30, 609–616.
- Estevez-Gonzalez, A., Garcia-Sanchez, C., Boltes, A., Otermer, P., Pascual-Sedano, B., Gironell, A., Kulisevsky, J., 2004. Semantic knowledge of famous people in mild cognitive impairment and progression to Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 17, 188–195.
- Farlow, M.R., He, Y., Tekin, S., Xu, J., Lane, R., Charles, H.C., 2004. Impact of APOE in mild cognitive impairment. *Neurology* 63, 1898–1901.
- Ganguli, M., Dodge, H.H., Shen, C., DeKosky, S.T., 2004. Mild cognitive impairment, amnesic type: an epidemiologic study. *Neurology* 63, 115–121.
- Garibotto, V., Borroni, B., Agosti, C., Premi, E., Alberici, A., Eickhoff, S.B., Brambati, S.M., Bellelli, G., Gasparotti, R., Perani, D., Padovani, A., 2011. Subcortical and deep cortical atrophy in frontotemporal lobar degeneration. *Neurobiol. Aging* 32, 875–884.
- Giffard, B., Desgranges, B., Nore-Mary, F., Lalevee, C., de la Sayette, V., Pasquier, F., Eustache, F., 2001. The nature of semantic memory deficits in Alzheimer's disease: new insights from hyperpriming effects. *Brain* 124, 1522–1532.
- Giffard, B., Desgranges, B., Nore-Mary, F., Lalevee, C., Beauvieux, H., de la Sayette, V., Pasquier, F., Eustache, F., 2002. The dynamic time course of semantic memory impairment in Alzheimer's disease: clues from hyperpriming and hypoprimer effects. *Brain* 125, 2044–2057.
- Gómez-Isa, T., Price, J.L., McKeel Jr., D.W., Morris, J.C., Growdon, J.H., Hyman, B.T., 1996. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 16, 4491–4500.
- Grothe, M., Zaborzky, L., Atienza, M., Gil-Neciga, E., Rodriguez-Romero, R., Teipel, S.J., Amunts, K., Suarez-Gonzalez, A., Cantero, J.L., 2010. Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cereb. Cortex* 20, 1685–1695.
- Hanseeuw, B., Dricot, L., Kavec, M., Grandin, C., Seron, X., Ivanou, A., 2011. Associative encoding deficits in amnesic mild cognitive impairment: a volumetric and functional MRI study. *Neuroimage* 56, 1743–1748.
- Haroutunian, V., Hoffman, L.B., Beeri, M.S., 2009. Is there a neuropathology difference between mild cognitive impairment and dementia? *Dialogues Clin. Neurosci.* 11, 171–179.
- Hasselmo, M.E., 2005. The role of hippocampal regions CA3 and CA1 in matching entorhinal input with retrieval of associations between objects and context: theoretical comment on Lee et al. (2005). *Behav. Neurosci.* 119, 342–345.
- Henke, K., Mondadori, C.R., Treyer, V., Nitsch, R.M., Buck, A., Hock, C., 2003a. Nonconscious formation and reactivation of semantic associations by way of the medial temporal lobe. *Neuropsychologia* 41, 863–876.
- Henke, K., Treyer, V., Nagy, E.T., Kneifel, S., Dürsteler, M., Nitsch, R.M., Buck, A., 2003b. Active hippocampus during nonconscious memories. *Conscious. Cogn.* 12, 31–48.
- Hodges, J.R., Patterson, K., 1995. Is semantic memory consistently impaired early in the course of Alzheimer's disease? Neuroanatomical and diagnostic implications. *Neuropsychologia* 33, 441–459.
- Hua, X., Leow, A.D., Parikshak, N., Lee, S., Chiang, M.C., Toga, A.W., Jack Jr., C.R., Weiner, M.W., Thompson, P.M., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, 2008. Tensor-based morphometry as a neuroimaging biomarker for Alzheimer's disease: an MRI study of 676 AD, MCI, and normal subjects. *Neuroimage* 43, 458–469.
- Jak, A.J., Houston, W.S., Nagel, B.J., Corey-Bloom, J., Bondi, M.W., 2007. Differential cross-sectional and longitudinal impact of APOE genotype on hippocampal volumes in nondemented older adults. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 23, 382–389.
- Jessen, F., Feyen, L., Freymann, K., Tepest, R., Maier, W., Heun, R., Schild, H.H., Scheef, L., 2006. Volume reduction of the entorhinal cortex in subjective memory impairment. *Neurobiol. Aging* 27, 1751–1756.
- Joubert, S., Brambati, S.M., Ansado, J., Barbeau, E.J., Felician, O., Didic, M., Lacombe, J., Goldstein, R., Chayer, C., Kergoat, M.J., 2010. The cognitive and neural expression of semantic memory impairment in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 48, 978–988.
- Kirwan, B.C., Stark, C.E.L., 2004. Medial temporal lobe activation during encoding and retrieval of novel face–name pairs. *Hippocampus* 14, 910–930.
- Konkel, A., Cohen, N.J., 2009. Relational memory and the hippocampus: representations and methods. *Front. Neurosci.* 3, 166–174.
- La Joie, R., Fouquet, M., Mézenge, F., Landeau, B., Villain, N., Mevel, K., Pélerin, A., Eustache, F., Desgranges, B., Chételat, G., 2010. Differential effect of age on hippocampal subfields assessed using a new high-resolution 3T MR sequence. *Neuroimage* 53, 506–514.
- Lee, I., Hunsaker, M.R., Kesner, R.P., 2005. The role of hippocampal subregions in detecting spatial novelty. *Behav. Neurosci.* 119, 145–153.
- Lind, J., Larsson, A., Persson, J., Ingvar, M., Nilsson, L.G., Bäckman, L., Adolfsson, R., Cruts, M., Sleegers, K., Van Broeckhoven, C., Nyberg, L., 2006. Reduced hippocampal volume in non-demented carriers of the apolipoprotein E epsilon4: relation to chronological age and recognition memory. *Neurosci. Lett.* 396, 23–27.
- Lipton, P.A., Eichenbaum, H., 2008. Complementary roles of hippocampus and medial entorhinal cortex in episodic memory. *Neural Plast.* doi:10.1155/2008/258467. Volume 2008, Article ID 258467, 1–8.
- Lipton, P.A., White, J.A., Eichenbaum, H., 2007. Disambiguation of overlapping experiences by neurons in the medial entorhinal cortex. *J. Neurosci.* 27, 5787–5795.
- Manns, J.R., Hopkins, R.O., Squire, L.R., 2003. Semantic memory and the human hippocampus. *Neuron* 38, 127–133.
- Martins, C.A., Oulhaj, A., de Jager, C.A., Williams, J.H., 2005. APOE alleles predict the rate of cognitive decline in Alzheimer disease: a nonlinear model. *Neurology* 65, 1888–1893.
- Mayeux, R., Small, S.A., Tang, M., Tycko, B., Stern, Y., 2001. Memory performance in healthy elderly without Alzheimer's disease: effects of time and apolipoprotein-E. *Neurobiol. Aging* 22, 683–689.
- Murphy, C., Jernigan, T.L., Fennema-Notestine, C., 2003. Left hippocampal volume loss in Alzheimer's disease is reflected in performance on odor identification: a structural MRI study. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 9, 459–471.
- Nilsson, L.G., Adolfsson, R., Bäckman, L., Cruts, M., Nyberg, L., Small, B.J., Van Broeckhoven, C., 2006. The influence of APOE status on episodic and semantic memory: data from a population-based study. *Neuropsychology* 20, 645–657.
- Perri, R., Carlesimo, G.A., Zannino, G.D., Mauri, M., Muolo, B., Pettenati, C., Caltagirone, C., 2003. Intentional and automatic measures of specific-category effect in the semantic impairment of patients with Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 41, 1509–1522.
- Perri, R., Carlesimo, G.A., Serra, L., Caltagirone, C., 2005. The Early Diagnosis Group of the Italian Interdisciplinary Network on Alzheimer's Disease. Characterization of memory profile in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 27, 1033–1055.
- Perri, R., Carlesimo, G.A., Serra, L., Caltagirone, C., 2009. When the amnesic mild cognitive impairment disappears: characterization of the memory profile. *Cogn. Behav. Neurol.* 22, 109–116.
- Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., Kokmen, E., 1999. Mild cognitive impairment. Clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 56, 303–308.
- Petersen, R.C., Doody, R., Kurz, A., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rabins, P.V., Ritchie, K., Rosser, M., Thal, L., Winblad, B., 2001. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch. Neurol.* 58, 1985–1992.
- Pievani, M., Galluzzi, S., Thompson, P.M., Rasser, P.E., Bonetti, M., Frisoni, G.B., 2011. APOE4 is associated with greater atrophy of the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neuroimage* 55, 909–919.
- Reitz, C., Brickman, A.M., Brown, T.R., Manly, J., DeCarli, C., Small, S.A., Mayeux, R., 2009. Linking hippocampal structure and function to memory performance in an aging population. *Arch. Neurol.* 66, 1385–1392.
- Rodrigue, K.M., Raz, N., 2004. Shrinkage of the entorhinal cortex over five years predicts memory performance in healthy adults. *J. Neurosci.* 24, 956–963.
- Scheff, S.W., Price, D.A., Schmitt, F.A., DeKosky, S.T., Mufson, E.J., 2007. Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology* 68, 1501–1508.
- Schmidt-Wilcke, T., Poljansky, S., Hierlmeier, S., Hausner, J., Ibach, B., 2009. Memory performance correlates with gray matter density in the ento-/perirhinal cortex and posterior hippocampus in patients with mild cognitive impairment and healthy controls: a voxel based morphometry study. *Neuroimage* 47, 1914–1920.
- Schönheit, B., Zarski, R., Ohm, T.G., 2004. Spatial and temporal relationships between plaques and tangles in Alzheimer-pathology. *Neurobiol. Aging* 25, 697–711.
- Segonne, F., Dale, A.M., Busa, E., Glessner, M., Salat, D., Hahn, H.K., Fischl, B., 2004. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage* 22, 1060–1075.
- Smith, G.E., Bohac, D.L., Waring, S.C., Kokmen, E., Tangalos, E.G., Ivnik, R.J., Petersen, R.C., 1998. Apolipoprotein E genotype influences cognitive 'phenotype' in patients with Alzheimer's disease but not in healthy control subjects. *Neurology* 50, 355–362.
- Snowden, J.S., Thompson, J.C., Neary, D., 2004. Knowledge of famous faces and names in semantic dementia. *Brain* 127, 860–872.
- Squire, L.R., Stark, C.E., Clark, R.E., 2004. The medial temporal lobe. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 279–306.
- Staresina, B.P., Davachi, L., 2008. Selective and shared contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to episodic item and associative encoding. *J. Cogn. Neurosci.* 20, 1478–1489.
- Stoub, T.R., deToledo-Morrell, L., Stebbins, G.T., Leurgans, S., Bennett, D.A., Shah, R.C., 2006. Hippocampal disconnection contributes to memory dysfunction in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 10041–10045.
- Takahashi, R., Ishii, K., Miyamoto, N., Yoshikawa, T., Shimada, K., Ohkawa, S., Kakigi, T., Yokoyama, K., 2010. Measurement of gray and white matter atrophy in dementia with Lewy bodies using diffeomorphic anatomic registration through exponentiated lie algebra: a comparison with conventional voxel-based morphometry. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 31, 1873–1878.
- Thompson, P.M., Hayashi, K.M., Dutton, R.A., Chiang, M.C., Leow, A.D., Sowell, E.R., De Zubicaray, G., Becker, J.T., Lopez, O.L., Aizenstein, H.J., Toga, A.W., 2007. Tracking Alzheimer's disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1097, 183–214.
- Troyer, A.K., Murphy, K.J., Anderson, N.D., Hayman-Abello, B.A., Craik, F.I., Moscovitch, M., 2008. Item and associative memory in amnesic mild cognitive impairment: performance on standardized memory tests. *Neuropsychology* 22, 10–16.

- Tsukiura, T., Suzuki, C., Shigemune, Y., Mochizuki-Kawai, H., 2008. Differential contributions of the anterior temporal and medial temporal lobe to the retrieval of memory for person identity information. *Hum. Brain Mapp.* 29, 1343–1354.
- Tupler, L.A., Krishnan, K.R., Greenberg, D.L., Marcovina, S.M., Payne, M.E., MacFall, J.R., Charles, H.C., Doraiswamy, P.M., 2007. Predicting memory decline in normal elderly: genetics, MRI, and cognitive reserve. *Neurobiol. Aging* 28, 1644–1656.
- Van Hoesen, G.W., Hyman, B.T., 1990. Hippocampal formation: anatomy and the patterns of pathology in Alzheimer's disease. *Prog. Brain Res.* 83, 445–457.
- Wang, L., Miller, J.P., Gado, M.H., McKeel, D.W., Rothermich, M., Miller, M.I., Morris, J.C., Csernansky, J.G., 2006. Abnormalities of hippocampal surface structure in very mild dementia of the Alzheimer type. *Neuroimage* 30, 52–60.
- Wechsler, D., 1997. Wechsler Memory Scale—Third Edition manual. The Psychological Corporation, San Antonio, TX.
- Wenham, P.R., Price, W.H., Blandell, G., 1991. Apolipoprotein E geno-typing by one-stage PCR. *Lancet* 337, 1158–1159.
- Wenjing, L., Huiguang, H., Jingjing, L., Bin, L., Meng, L., Zhengyu, J., 2009. Detection of whole-brain abnormalities in temporal lobe epilepsy using tensor-based morphometry with DARTEL. In: Liu, J., Doi, K., Fenster, A., Chan, S.C. (Eds.), *MIPPR 2009: Medical Imaging, Parallel Processing of Images, and Optimization Techniques: Proceedings of the SPIE*, 7497, pp. 749723–749726.
- Wolk, D.A., Dickerson, B.C., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, 2010. Apolipoprotein E (APOE) genotype has dissociable effects on memory and attentional-executive network function in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 10256–10261.
- Yassa, M.A., Stark, S.M., Bakker, A., Albert, M.S., Gallagher, M., Stark, C.E., 2010. High-resolution structural and functional MRI of hippocampal CA3 and dentate gyrus in patients with amnesic Mild Cognitive Impairment. *Neuroimage* 51, 1242–1252.
- Yesavage, J.A., Brink, T.L., Rose, T.L., Lum, O., 1983. Development and validation of a geriatric depression scale: a preliminary report. *J. Psychiatr. Res.* 17, 37–49.
- Ystad, M.A., Lundervold, A.J., Wehling, E., Espeseth, T., Rootwelt, H., Westlye, L.T., Andersson, M., Adolfsdottir, S., Geitung, J.T., Fjell, A.M., Reinvang, I., Lundervold, A., 2009. Hippocampal volumes are important predictors for memory function in elderly women. *BMC Med. Imaging* 9, 17.