

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE

Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular



# **Correlatos neurales del déficit de memoria asociativa en el deterioro cognitivo leve: efecto del gen *APOE* y conversión a la enfermedad de Alzheimer**

Tesis Doctoral  
presentada por

**Laura Prieto del Val**

Dirigida por

**Dra. Mercedes Atienza Ruiz**

**Dr. José Luis Cantero Lorente**

Sevilla, 2017





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 Dña. Laura Prieto del Val ha realizado bajo su dirección el presente trabajo de Tesis titulado "*Correlatos neurales del déficit de memoria asociativa en el deterioro cognitivo leve: efecto del gen APOE y conversión a la enfermedad de Alzheimer*". Este trabajo reúne las condiciones académicas exigidas para optar al Grado de Doctor con mención Internacional por la Universidad Pablo de Olavide, de Sevilla.

Y para que así conste, firmamos el presente documento en Sevilla, a 8 de mayo de 2017

Fdo.: Dra. Mercedes Atienza Ruiz

Fdo.: Dr. José Luis Cantero Lorente

Fdo.: Laura Prieto del Val



*A las mejores personas que he conocido y conoceré jamás  
y cuyo ejemplo siempre me guiará:*

*Mis abuelos Carlos e Isabel,*

*Y mis padres Román y Maribel.*



## ***Agradecimientos***

Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas las personas y entidades sin cuya colaboración no hubiera sido posible realizar el presente trabajo de Tesis.

En primer lugar, debo agradecer a la Universidad Pablo de Olavide y al Hospital Universitario Virgen del Rocío por brindar los medios técnicos necesarios para desarrollar el estudio, así como a la beca-contrato de Formación de Personal Investigador que me fue concedida por proveer parte de la financiación necesaria para este proyecto. Muchísimas gracias particularmente a todas las personas voluntarias que participaron en este estudio de manera completamente altruista y generosa. Valoro enormemente que prestaran parte de su valioso tiempo para poder permitir la realización de este trabajo.

Especial mención merecen todos los integrantes del Laboratorio de Neurociencia Funcional donde se ha desarrollado este proyecto. Mis directores de Tesis, por su gran esfuerzo, tenacidad y dedicación. Me gustaría agradecer de manera especial a Mercedes por contestar siempre a mis preguntas (que no fueron pocas) y por todas las enseñanzas y explicaciones que tuvieron lugar a lo largo de estos años. Mis compañeros de laboratorio, cuya contribución ha sido excepcional desde el principio hasta el final. Me gustaría destacar particularmente a Sofía Rodríguez, Mayely Sánchez, Maité Crespo, Rafael García, Esther Alberca, Gabriel González, Daniel Baena, Eva Hita y Kelly Atalaia, por su directa aportación y por todo el tiempo invertido en la realización de cada uno de los pasos de este trabajo. También agradecer al resto de compañeros del laboratorio por su cariño, su comprensión y por el apoyo mostrado en todo momento, día tras día.

Y como no, gracias infinitas a mis padres y a mis abuelos por estar siempre ahí, en la distancia pero a mi lado. Por ser como son, por ilusionarse con mis logros y por animarme siempre en los momentos más duros. Y también por incentivar-me a subir cada montaña hasta el final. Es verdad que desde la cumbre se ve todo mucho más bonito. Muy agradecida estoy a Damian por su apoyo, por su paciencia, y sobre todo por nutrirme cada día con nuevas ideas que han contribuido indudablemente al desarrollo de mi pensamiento crítico y escepticismo científico, y en definitiva a mi formación.

Gracias a todas las personas maravillosas que me he encontrado por el camino, que me han hecho pensar, y que me han hecho reír. Os estaré siempre agradecida, vuestro apoyo ha sido más que imprescindible para seguir avanzando a lo largo de esta larga, pero finita, travesía.





## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABLAS	6
RESUMEN / SUMMARY	9
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. La Enfermedad de Alzheimer (EA)	16
1.1.1. <i>Epidemiología</i>	16
1.1.2. <i>Caracterización neuropatológica</i>	17
1.1.3. <i>Factores de riesgo</i>	26
1.2. El Deterioro Cognitivo Leve (DCL)	30
1.2.1. <i>Concepto de DCL y tipología</i>	30
1.2.2. <i>Alteraciones de la memoria en el DCL de tipo amnésico (DCLa)</i>	32
1.2.3. <i>Biomarcadores predictores de la conversión de DCL a EA</i>	35
1.3. Cambios en las oscilaciones EEG asociados al DCLa	39
2. PLANTEAMIENTO DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS	43
2.1. Planteamiento general de los objetivos	43
2.2. Hipótesis relacionadas con el efecto del genotipo <i>APOE4</i> sobre los correlatos EEG de la memoria episódica en el DCLa	45
2.3. Hipótesis relacionadas con la capacidad de los correlatos EEG de la memoria para predecir la conversión de DCLa a EA	48
3. MATERIALES Y MÉTODOS	53
3.1. Sujetos	53
3.2. Determinación de los polimorfismos genéticos del gen <i>APOE</i>	55
3.3. Estímulos	56
3.4. Paradigma experimental	58
3.5. Análisis comportamental	61
3.6. Oscilaciones EEG	62
3.6.1. <i>Registro de la señal EEG</i>	62
3.6.2. <i>Pre-procesamiento de la señal EEG</i>	63
3.6.3. <i>Análisis de la señal EEG en el dominio espectral, temporal y espacial</i>	64
3.6.4. <i>Estimación de los generadores corticales de las oscilaciones EEG</i>	68
3.6.5. <i>Análisis estadísticos a nivel de fuentes generadoras</i>	71

3.7. Imágenes de resonancia magnética cerebral (RM)	73
3.7.1. <i>Adquisición y pre-procesamiento</i>	73
3.7.2. <i>Estimación y análisis del volumen del hipocampo y la amígdala</i>	74
3.7.3. <i>Estimación y análisis del espesor cortical</i>	74
3.8. Análisis de mediación	75
3.9. Análisis de regresión logística	77
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>81</b>
4.1. Características demográficas y perfil neuropsicológico	81
4.2. Correlatos cerebrales estructurales y funcionales de la memoria asociados al genotipo APOE4 en el DCLa	83
4.2.1. <i>Resultados comportamentales</i>	83
4.2.2. <i>Resultados derivados de los descriptores de RM</i>	86
4.2.2.1. <i>Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre el volumen de estructuras del lóbulo temporal medial y sobre el espesor de la corteza</i>	86
4.2.2.2. <i>Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre los correlatos cerebrales estructurales de la memoria</i>	88
4.2.3. <i>Resultados derivados de las oscilaciones EEG</i>	89
4.2.3.1. <i>Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre la potencia de las oscilaciones EEG</i>	89
4.2.3.2. <i>Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre los correlatos EEG de la memoria</i>	96
4.2.4. <i>Resultados derivados del análisis de mediación durante la recuperación</i>	104
4.3. Evaluación de la capacidad de las oscilaciones EEG asociadas a la memoria asociativa para predecir la progresión de DCLa a EA	110
4.3.1. <i>Resultados comportamentales</i>	110
4.3.2. <i>Resultados derivados de los descriptores estructurales de la RM cerebral</i>	111
4.3.3. <i>Resultados derivados de los cambios en los correlatos EEG de la memoria asociativa</i>	112
4.3.4. <i>Predicción de la conversión de DCLa a EA</i>	117
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>121</b>
5.1. El déficit episódico en los DCLa $\epsilon 4^+$ se asocia con la atrofia del lóbulo temporal medial y con fallos en los mecanismos de compensación neural	122
5.1.1. <i>La facilitación semántica durante la codificación no contrarresta el déficit episódico en los DCLa <math>\epsilon 4^+</math></i>	123
5.1.2. <i>Las alteraciones en las oscilaciones EEG inducidas por la patofisiología asociada al DCLa en relación con la memoria están condicionadas por el genotipo APOE4</i>	125
5.1.3. <i>El genotipo APOE4 limita la capacidad para activar mecanismos compensatorios en pacientes con DCLa</i>	127

5.1.4. <i>El genotipo APOE4 condiciona la relación entre el volumen del hipocampo y la memoria episódica en pacientes con DCLa</i>	131
5.1.5. <i>Mecanismos asociados al genotipo APOE4 que podrían dificultar/impedir el reclutamiento de mecanismos neurales compensatorios efectivos en pacientes con DCLa</i>	134
5.1.5.1. <i>El genotipo APOE4 podría interferir con el reclutamiento de mecanismos colinérgicos compensatorios en el hipocampo de pacientes con DCLa</i>	135
5.1.5.2. <i>El genotipo APOE4 podría interferir con la conectividad cortico-cortical en pacientes con DCLa</i>	136
5.2. <b>Las alteraciones de las oscilaciones alfa asociadas a la memoria y el volumen de la amígdala predicen la progresión de DCLa a EA</b>	139
5.3. <b>Limitaciones del estudio</b>	142
<b>CONCLUSIONES / CONCLUSIONS</b>	147
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	151
<b>ANEXOS</b>	
Anexo I. Artículo publicado en <i>Hippocampus</i> (2015)	179
Anexo II. Artículo publicado en <i>Scientific Reports</i> (2016)	205



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Placas seniles y ONF	18
<b>Figura 2.</b>	Representación esquemática de la formación de placas de A $\beta$	20
<b>Figura 3.</b>	Representación esquemática de la formación de ONF	21
<b>Figura 4.</b>	Curso temporal de la distribución regional de las placas seniles y ONF en la EA	23
<b>Figura 5.</b>	Papel del genotipo <i>APOE4</i> en la patogénesis de la EA	28
<b>Figura 6.</b>	Capacidad predictiva de diferentes biomarcadores en el curso temporal de la EA	36
<b>Figura 7.</b>	Representación esquemática del paradigma experimental	58
<b>Figura 8.</b>	Protocolo de análisis de las oscilaciones EEG	65
<b>Figura 9.</b>	Creación de la matriz <i>leadfield</i>	70
<b>Figura 10.</b>	Resultados comportamentales en las pruebas de memoria	85
<b>Figura 11.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en el espesor cortical	88
<b>Figura 12.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en las oscilaciones beta durante la codificación	90
<b>Figura 13.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en diferentes rangos de frecuencia durante la recuperación	91
<b>Figura 14.</b>	Correlatos EEG de la memoria asociativa en los controles	98
<b>Figura 15.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ ) en los correlatos EEG de la memoria asociativa durante la codificación	99
<b>Figura 16.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en los correlatos EEG de la memoria asociativa durante la recuperación	101
<b>Figura 17.</b>	Papel mediador de las oscilaciones theta sobre la relación entre el espesor de la corteza temporal y la memoria en los DCLa $\epsilon 4^-$	105
<b>Figura 18.</b>	Papel mediador de las oscilaciones alfa/beta sobre la relación entre la potencia de las oscilaciones theta y la memoria en los DCLa $\epsilon 4^-$	107
<b>Figura 19.</b>	Modelo de mediación secuencial doble	108
<b>Figura 20.</b>	Modelo de mediación secuencial triple	109
<b>Figura 21.</b>	Diferencias en los índices de memoria tras comparar DCLa-e y DCLa-c	111
<b>Figura 22.</b>	Diferencias en el volumen de las estructuras del lóbulo temporal medial tras comparar DCLa-e y DCLa-c	112
<b>Figura 23.</b>	Diferencias en las oscilaciones EEG a nivel de sensor tras comparar DCLa-e y DCLa-c	113
<b>Figura 24.</b>	Diferencias en las oscilaciones alfa a nivel de generadores tras comparar DCLa-e y DCLa-c	114

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Perfil demográfico/neuropsicológico de la muestra	82
<b>Tabla 2.</b>	Perfil demográfico/neuropsicológico de los DCLa en función del <i>APOE4</i> y de la progresión a EA	83
<b>Tabla 3.</b>	Media y desviación estándar de los índices de memoria de precisión ( <i>d'</i> ) obtenidos en la tarea visuoespacial	86
<b>Tabla 4.</b>	Diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en el espesor cortical	87
<b>Tabla 5.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) durante la codificación	93
<b>Tabla 6.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) durante la recuperación	94
<b>Tabla 7.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) en los coeficientes de regresión resultantes de correlacionar la desincronización en alfa y beta durante la codificación con la <i>d' asociativa</i>	100
<b>Tabla 8.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) al correlacionar theta durante la recuperación con la <i>d' asociativa</i>	102
<b>Tabla 9.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa $\epsilon 4^-$ , DCLa $\epsilon 4^+$ ) al correlacionar la desincronización en alfa/beta durante la recuperación con la <i>d' asociativa</i>	103
<b>Tabla 10.</b>	Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (DCLa-e, DCLa-c) en la desincronización de alfa durante la codificación y posterior recuperación	115
<b>Tabla 11.</b>	Regiones corticales en las que los DCLa-e mostraron una relación entre la desincronización de alfa y la <i>d' asociativa</i> durante la codificación y posterior recuperación	116
<b>Tabla 12.</b>	Valores predictivos de cada clasificador para la progresión a EA	117

***RESUMEN / SUMMARY***

---





## RESUMEN

El daño sináptico, debido fundamentalmente a la presencia de oligómeros solubles de beta amiloide ( $A\beta$ ), es uno de los primeros eventos que caracteriza a la enfermedad de Alzheimer (EA). Estos fallos en la transmisión sináptica alteran los mecanismos de sincronización neuronal desencadenando cambios en las oscilaciones electroencefalográficas (EEG). Las oscilaciones neuronales en diferentes rangos de frecuencia facilitan el procesamiento y el flujo de información tanto a nivel local como entre regiones cerebrales distantes, y por ello constituyen un elemento fundamental de la cognición. Dado que la memoria episódica es una de las funciones cognitivas más afectadas en las fases prodrómicas de la EA, el presente trabajo pretende evaluar en pacientes con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCLa) el posible efecto que pueda ejercer el genotipo *APOE4*, considerado el mayor factor de riesgo genético para la EA de tipo esporádico, sobre las oscilaciones EEG asociadas a una tarea de memoria episódica. Además, se evaluará si dichas oscilaciones, ya sea de forma aislada o en combinación con otros marcadores estructurales de resonancia magnética (RM) cerebral, son capaces de predecir la conversión de DCLa a EA.

Para abordar estos objetivos se ha adoptado una aproximación multimodal y longitudinal que incluye: i) diferentes índices de memoria, uno relacionado con la memoria asociativa y otro relacionado con el beneficio que supone para la memoria episódica presentar claves semánticas durante la codificación, ii) diferentes parámetros de las oscilaciones EEG (potencia espectral, frecuencia y distribución topográfica) evaluadas a nivel de sensor y a nivel de fuentes generadoras, y iii) diversos marcadores de la estructura cerebral, como el espesor cortical y el volumen del hipocampo y la amígdala.

En el estudio participaron 26 personas mayores normales desde un punto de vista cognitivo y neurológico que no portaban el genotipo *APOE4* (controles) y 34 pacientes con DCLa, 18 de los cuales portaban el *APOE4* ( $\epsilon 4^+$ ) y 16 no ( $\epsilon 4^-$ ). Transcurridos 2 años, 16 DCLa convirtieron a EA (DCLa-c) y 18 permanecieron estables (DCLa-e). Las oscilaciones EEG se registraron en la línea base durante la codificación y recuperación de nuevas memorias. En la fase de codificación, los participantes vieron caras de personas famosas en una determinada localización espacial, la mitad precedidas por claves semánticas congruentes y la otra mitad por claves incongruentes. En la fase

de recuperación se esperaba que el reconocimiento de la cara en una localización particular estuviera facilitado para las caras codificadas en condiciones de congruencia semántica.

La memoria asociativa fue mejor en los controles y peor en los DCLa  $\epsilon 4^+$  y en los DCLa-c, mientras que los DCLa  $\epsilon 4^-$  y los DCLa-e se situaron a medio camino. El daño asociativo mostrado por los DCLa  $\epsilon 4^+$  y los DCLa-c estuvo asociado a la incapacidad para beneficiarse de la congruencia semántica durante la codificación. A nivel estructural, el principal predictor de la memoria asociativa en los DCLa  $\epsilon 4^+$  fue el volumen del hipocampo derecho, mientras que el volumen de la amígdala derecha emergió como el mejor predictor de la conversión a EA. Desde un punto de vista funcional, los DCLa  $\epsilon 4^+$  y los DCLa-c mostraron una menor desincronización de alfa en amplias regiones de la corteza en comparación con los DCLa  $\epsilon 4^-$  y los DCLa-e, respectivamente. Este déficit funcional asociado a las oscilaciones alfa no solo fue capaz de predecir la conversión de DCLa a EA, sino que además mejoró la capacidad de la amígdala para predecir la progresión de la enfermedad. Aunque los mejores resultados se obtuvieron cuando se combinaron ambos marcadores (*i.e.*, déficit funcional en el rango de alfa y volumen de la amígdala) en un único modelo. En el caso de los DCLa  $\epsilon 4^+$ , la menor desincronización de alfa fue un reflejo de su incapacidad para reclutar mecanismos compensatorios. En concreto, los análisis de mediación revelaron que la disminución de volumen del hipocampo en los DCLa impactó de manera diferente sobre la memoria en función de que los pacientes fueran portadores del genotipo *APOE4*. Mientras que este efecto fue directo en los DCLa  $\epsilon 4^+$ , en los DCLa  $\epsilon 4^-$  estuvo mediado por la capacidad para reclutar regiones temporales en el rango de theta y regiones parieto-temporales en el rango de alfa/beta, todo ello condicionado por el grado de integridad cortical del lóbulo temporal.

Estos hallazgos ponen de manifiesto que las oscilaciones alfa asociadas a una tarea de memoria episódica son un buen predictor de la progresión de la EA, sobre todo si se combinan con otros marcadores estructurales del lóbulo temporal medial. Además, nos permiten entender mejor cómo el genotipo *APOE4* modula el impacto de la atrofia del hipocampo sobre la memoria en pacientes con DCLa. En conjunto, los resultados del presente estudio aportan evidencias que podrían mejorar el diagnóstico temprano de la EA, su pronóstico y el diseño de intervenciones terapéuticas adaptadas al daño cerebral de cada individuo y a su potencial para compensarlo.

## SUMMARY

Synaptic failure is one of the first events that characterises Alzheimer's disease (AD) and is fundamentally due to the presence of soluble oligomers of amyloid beta ( $A\beta$ ). Failures in synaptic transmission alter neural synchronization mechanisms, triggering changes in electroencephalographic (EEG) oscillations. Neural oscillations in different frequency ranges facilitate information processing and flow both at the local level and between distant cortical regions, constituting a fundamental element of cognition. Since episodic memory is one of the cognitive functions most affected in the prodromal phase of AD, the present study in patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI) aims to evaluate the effect of the *APOE4* genotype, considered the highest genetic risk factor for sporadic AD, on EEG oscillations related to an episodic memory task. In addition, these oscillations, either by themselves or in combination with other structural biomarkers of brain magnetic resonance (MR), will be examined for their ability to predict the conversion of aMCI to AD.

To address these goals, a multimodal and longitudinal approach has been adopted including: i) two indices of memory, one measuring associative memory and the other measuring the benefit derived from presenting semantic cues during the encoding phase for episodic memory, ii) different EEG oscillatory parameters (spectral power, frequency and topographical distribution) evaluated at sensor and source level, and iii) diverse brain structure biomarkers, such as cortical thickness and the volume of the hippocampus and the amygdala.

Twenty-six older adults cognitively and neurologically normal and *APOE4* noncarriers (controls) and 34 patients with aMCI, 18 *APOE4* noncarriers ( $\epsilon 4^-$ ) and 16 carriers ( $\epsilon 4^+$ ), participated in the study. After 2 years, 16 aMCI individuals developed AD (aMCI-c) and 18 remained stable (aMCI-s). EEG oscillations were registered at baseline during encoding and retrieval of new memories. At the encoding phase, participants were showed the faces of famous, recognizable individuals in a specific spatial location, half of which were preceded by a congruent semantic cue and the other half by an incongruent semantic cue. At the retrieval phase, it was predicted

that the recognition of a face in a particular location would be facilitated by faces encoded under semantically congruent conditions.

Associative memory performance was best in control subjects and worst in aMCI $\epsilon 4^+$  and aMCI-c, while aMCI  $\epsilon 4^-$  and aMCI-s subjects' performance fell between the two extremes. The associative deficit showed by aMCI $\epsilon 4^+$  and aMCI-c was associated with the inability to benefit from semantic congruence at encoding. At a structural level, the key feature determining associative memory in aMCI  $\epsilon 4^+$  was the volume of the right hippocampus, while the right amygdala emerged as the best predictor for aMCI to AD conversion. From a functional perspective, aMCI  $\epsilon 4^+$  and aMCI-c showed lower alpha desynchronization over an extensive cortical network compared to aMCI  $\epsilon 4^-$  and aMCI-s, respectively. This functional deficit associated with alpha oscillations not only predicted conversion from aMCI to AD, but also improved the capacity of the amygdala to predict conversion to the disease. Despite this, best results were obtained when both biomarkers were combined (*i.e.*, functional deficit in alpha and volume of the amygdala) in a singular model. Regarding aMCI  $\epsilon 4^+$  individuals, decreases in the alpha frequency band reflected an inability to recruit compensatory mechanisms. Specifically, mediation analysis revealed that decreases in hippocampal volume in aMCI had a different impact on memory dependent on whether the patients were *APOE4* carriers or noncarriers. While this effect was direct in aMCI  $\epsilon 4^+$ , it was mediated by the ability to recruit temporal regions in the theta range and parieto-temporal regions in the alpha/beta range in aMCI  $\epsilon 4^-$ , all of which was limited by the degree of integrity of the cortical temporal lobe.

These findings demonstrate that alpha oscillations associated with an episodic memory task are a good predictor of AD progression, specifically when combined with structural markers of the medial temporal lobe. Moreover, they shed light on the issue of how the *APOE4* genotype modulates the impact of hippocampal atrophy on memory in patients with aMCI. Together, the results of the present study provide evidence of biomarkers that could lead to improved early diagnoses of AD, its prognosis, and the design of individualized therapeutic interventions adapted to AD-related brain damage and to the brain's intrinsic potential for compensation.

## **1. INTRODUCCIÓN**

---



## 1. INTRODUCCIÓN

La evolución ha moldeado la organización anatómica y funcional del cerebro humano, convirtiéndolo en el sistema de computación más sofisticado de la naturaleza (Bruner *et al.*, 2014). La corteza cerebral es, sin duda, la estructura que más cambios ha sufrido durante este proceso y, por ende, la que mejor nos distingue del resto de mamíferos (Douglas & Martin, 2004). Uno de los principales desafíos de la neurociencia cognitiva contemporánea consiste en identificar y explicar cómo la gran variedad de códigos neurales corticales se traducen en funciones cognitivas tan complejas y fascinantes como el lenguaje o la memoria. La dificultad de esta tarea es excepcional si consideramos que la organización anátomo-funcional de la corteza cerebral está además sometida a los continuos cambios que impone la ontogenia de la mano de la epigenética y la interacción con el ambiente a través de procesos moleculares, celulares y fisiológicos. Estos cambios no siempre resultan favorables para el individuo, a menudo suponen disfunciones neurales que promueven la vulnerabilidad cerebral, pudiendo desencadenar la aparición de diversas enfermedades neurodegenerativas en las últimas etapas de la vida.

Sin embargo, los cambios cerebrales asociados a una enfermedad neurodegenerativa no siempre tienen una correspondencia directa en el comportamiento del individuo, gracias a la existencia de mecanismos neurales que contrarrestan, de manera sorprendentemente efectiva, la disfunción neural o la lesión cerebral durante años (Park & Reuter-Lorenz, 2009; Reuter-Lorenz *et al.*, 2014; Stern, 2012). Un claro ejemplo de ello lo constituye la enfermedad de Alzheimer (EA), condición neurodegenerativa que se desarrolla de forma silente durante décadas hasta la aparición de sus primeros síntomas (Buchhave *et al.*, 2012; Weiner, 2013). Es por ello que una parte importante de la investigación relacionada con la EA se ha centrado en identificar biomarcadores para detectar, de forma sensible y específica, las fases preclínicas y prodrómicas de la enfermedad, con el objetivo de aplicar las terapias disponibles desde sus estadios más tempranos. La presente Tesis Doctoral trata de ahondar en esta cuestión,

combinando en personas mayores con deterioro cognitivo leve biomarcadores clásicos de la EA con cambios en la actividad oscilatoria cerebral asociados a la formación de nuevas memorias.

Antes de exponer los objetivos e hipótesis que han guiado este trabajo, revisaremos la situación actual de la EA desde un punto de vista epidemiológico, neuropatológico y clínico, así como las consecuencias de portar el alelo  $\epsilon 4$  del gen *APOE*, factor de riesgo más relevante en la EA esporádica (Corder *et al.*, 1993). A continuación, realizaremos una breve descripción del síndrome de deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCLa), considerado como la fase prodrómica de la EA, y de los biomarcadores que mejor predicen la progresión desde este estadio a la EA probable. Este apartado finalizará exponiendo las ventajas que supone utilizar las oscilaciones cerebrales registradas mediante la técnica de la electroencefalografía (EEG) como técnica alternativa a la resonancia magnética funcional (RMf) para investigar los correlatos neurales de la memoria durante el envejecimiento y las fases prodrómicas de la EA.

## **1.1. La Enfermedad de Alzheimer (EA)**

### **1.1.1. Epidemiología**

El segmento de población de mayor edad ha aumentado drásticamente en las últimas décadas, especialmente en los países más desarrollados. En España, la esperanza de vida ha pasado de 35 años en 1900 a 83,3 años en 2014 (OMS, 2014). Se estima que para el año 2029 la esperanza de vida alcance los 84 años en hombres y los 88,7 años en mujeres, mientras que en el año 2063 estos valores podrían ascender a 91 y 94,3 años, respectivamente (INE, 2014). Estos datos vienen a confirmar que España continuará siendo uno de los países más envejecidos del planeta en las siguientes décadas.

Tradicionalmente, los estudios epidemiológicos han situado a la EA entre las diez primeras causas de mortalidad en los países desarrollados, llegando a suponer el 10% del total de las



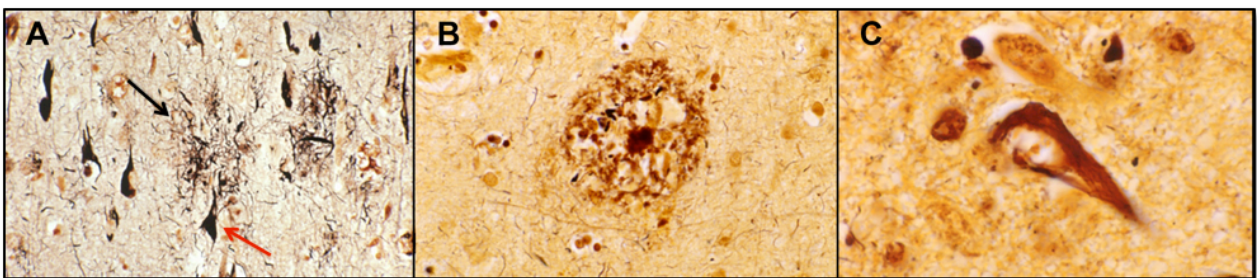
muerres en España (OMS, 2014). De hecho, estudios recientes han confirmado que esta demencia neurodegenerativa es una importante causa de mortalidad en todo el mundo (GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators). La incidencia de la EA aumenta con la edad, afectando aproximadamente a un 1% de las personas menores de 65 años, al 5-10% de las personas mayores de 65 años y al 20-40% de los mayores de 80 años (Carazo & Blanco, 2001). El tiempo transcurrido desde que aparecen los primeros síntomas hasta que la persona fallece oscila entre 3 y 4 años si el diagnóstico se produce después de los 80 años, pero puede prolongarse hasta 10 años si el diagnóstico se realiza a edades más tempranas. Por otra parte, la EA supone para el sistema un gasto socio-sanitario significativamente mayor que el causado por el envejecimiento normal u otras enfermedades como las cardiovasculares o el cáncer (Hurd *et al.*, 2013). Ello se debe, sobre todo, al aumento de la comorbilidad (infecciones, neumonía y caídas) y de las numerosas visitas a urgencias (Zhao *et al.*, 2008). En España, el 87% del gasto ocasionado por esta enfermedad corre a cargo de la familia del paciente frente al 13% asumido por el Estado (Coduras *et al.*, 2010).

Desafortunadamente, no existe en la actualidad ninguna terapia que cure la EA. Algunos estudios han mostrado resultados modestos tras administrar inhibidores de la colinesterasa, antagonistas de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) (Galimberti & Scarpini, 2011), o determinados anticuerpos monoclonales humanos capaces de reducir las concentraciones cerebrales de beta amiloide (A $\beta$ ) (Sevigny *et al.*, 2016). Aunque está aún por demostrar, es posible que algunos de estos tratamientos incrementara su efectividad si se administrara en los años previos a la aparición de los primeros síntomas de la EA. De ahí que sea esencial identificar biomarcadores sensibles y específicos ante los cambios que se producen en las fases más tempranas del proceso neurodegenerativo.

### **1.1.2. Caracterización neuropatológica**

Las lesiones cerebrales que caracterizan a la EA fueron descritas por primera vez por Alois Alzheimer a comienzos del siglo XX. Sin embargo, no fue hasta la década de los 70 cuando

empezó a cobrar interés el estudio de los mecanismos etiopatológicos y sus posibles tratamientos. Tal como Alois Alzheimer apuntaba, "nos encontramos ante una enfermedad degenerativa progresiva causada por la acumulación de sustancias patológicas en el cerebro" (Alzheimer, 1907, traducido en Stelzman *et al.*, 1995). La neuropatología de la EA, ilustrada en la **Figura 1**, se caracteriza por la presencia de agregados de A $\beta$ , denominados placas seniles (Glennner & Wong, 1984), junto con agrupaciones densas de filamentos helicoidales, conocidos como ovillos neurofibrilares (ONF) (Braak & Braak, 1991; Perry *et al.*, 1991). El diagnóstico definitivo (post mortem) de la EA requiere de la presencia de ambas lesiones en regiones canónicas de la enfermedad, y la densidad de las mismas debe superar a la observada en personas mayores sanas. Como se explicará a continuación, las lesiones de la EA resultan del plegamiento anómalo de dos proteínas presentes en nuestro cerebro.



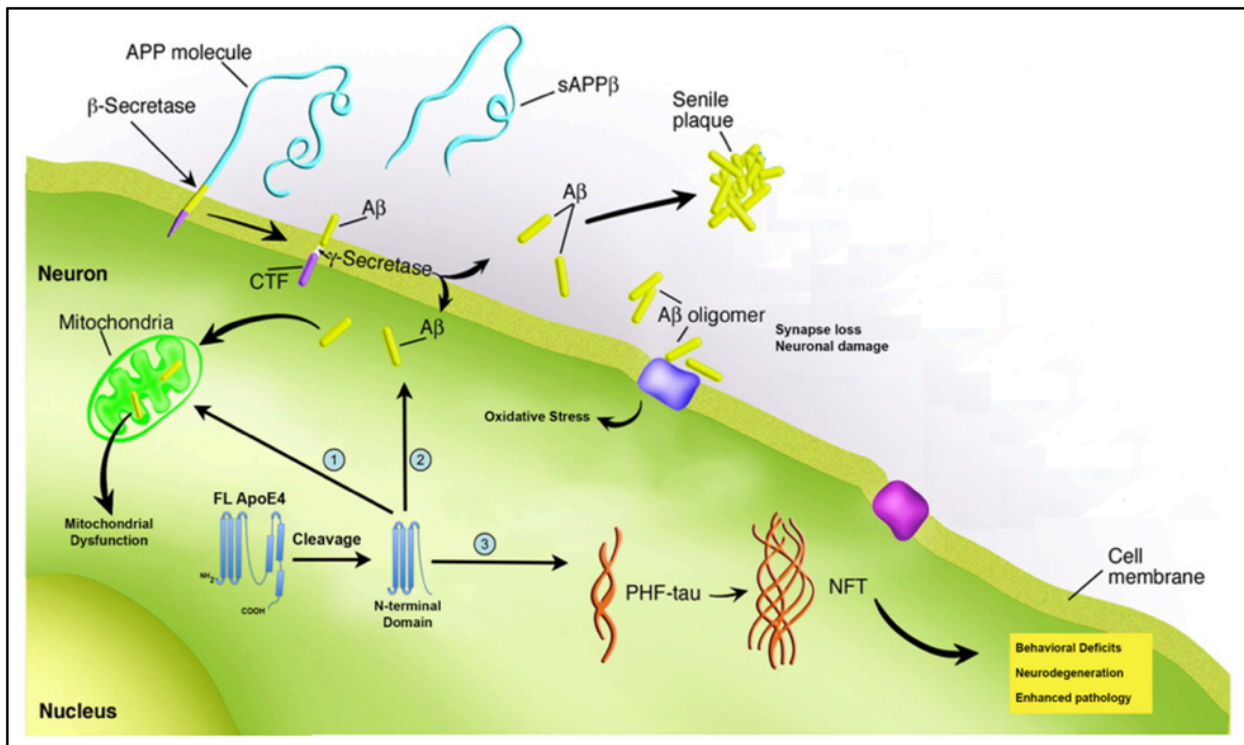
**Figura 1. Placas seniles y ONF.** A) Presencia de placas seniles (flecha negra) y ONF (flecha roja) en el subículo del hipocampo. B) Placa senil en el hipocampo. C) ONF en el hipocampo. Figura modificada de Marcus & Jacobson, 2003.

Las placas seniles son agregados insolubles compuestos por diferentes péptidos de A $\beta$  con 40 o 42 aminoácidos (Glennner & Wong, 1984). Estos péptidos provienen de la hidrólisis alternativa de la proteína precursora de amiloide (APP, amyloid precursor protein en inglés), que es una proteína transmembrana necesaria para el crecimiento neural y la formación de sinapsis, cuyo gen se localiza en el cromosoma 21. La proteína APP tiene dos vías de procesamiento en la membrana plasmática, una normal no amiloidogénica y otra anormal de carácter amiloidogénica. En la vía no amiloidogénica participa la enzima  $\alpha$ -secretasa que produce la porción  $\alpha$ -soluble de la APP ( $\alpha$ APP) (Sisodia, 1992). Alternativamente, en la vía amiloidogénica

participa una enzima llamada  $\beta$ -secretasa que genera la porción  $\beta$ -soluble de la APP ( $\beta$ APP), y otra enzima, la  $\gamma$ -secretasa, que promueve la liberación de un fragmento insoluble en el espacio extracelular (Haass & Selkoe, 1993). Es precisamente este mecanismo alternativo el que desencadena la patología amiloide que subyace a la EA (Fukumoto *et al.*, 2002). La activación de dicho mecanismo libera al espacio extracelular fragmentos solubles denominados monómeros, que sufren una serie de transformaciones hasta convertirse en fibrillas insolubles que finalmente se agregan hasta formar las placas seniles (Finder & Glockshuber, 2007). La acumulación de estas placas, ya sea por una producción excesiva o por un aclaramiento anómalo, producen disfunciones sinápticas y daño cerebrovascular y activan a la microglía induciendo la producción de citocinas inflamatorias; estas alteraciones desencadenan a su vez que las neuronas colindantes, a través de la influencia de los astrocitos, pongan en marcha una serie de mecanismos de retroalimentación positiva que incrementan la producción del A $\beta$  (Dal Prà *et al.*, 2015). Entre otras cosas, el incremento crónico de A $\beta$  produce alteraciones en los circuitos cerebrales responsables de los procesos de memoria (Walsh *et al.*, 2002).

Durante mucho tiempo se ha asumido que la acumulación de A $\beta$  era el principal detonante de la EA (Hardy & Higgins, 1992; Selkoe, 1991). De hecho, la hipótesis de la cascada amiloidea continúa siendo un marco conceptual válido en la actualidad (Pimplikar, 2009). Esta hipótesis comenzó a entrar en desuso básicamente por la falta de relación entre la densidad de agregados de A $\beta$  y el deterioro cognitivo o la muerte neuronal que caracterizan al curso temporal de la EA (Erten-Lyons *et al.*, 2009; Sloane *et al.*, 1997). Esta controversia ha conducido a una hipótesis alternativa que postula que los oligómeros solubles de A $\beta$ , previos a la formación de las placas seniles, serían los principales detonantes del daño sináptico y del deterioro cognitivo que subyace a la EA (Glabe, 2005; Walsh & Selkoe, 2004). De hecho, estudios en modelos murinos (Hsia *et al.*, 1999; Mucke *et al.*, 2000) y humanos (Palop & Mucke, 2010) han revelado que la presencia de estos oligómeros, en ausencia de placas, está relacionada con el grado de disfunciones sinápticas y de deterioro cognitivo (Gandy *et al.*, 2010), existiendo una relación inversa entre el tamaño de estos oligómeros y su toxicidad, siendo los de menor tamaño los más tóxicos (Sengupta *et al.*, 2016). La **Figura 2** ilustra de

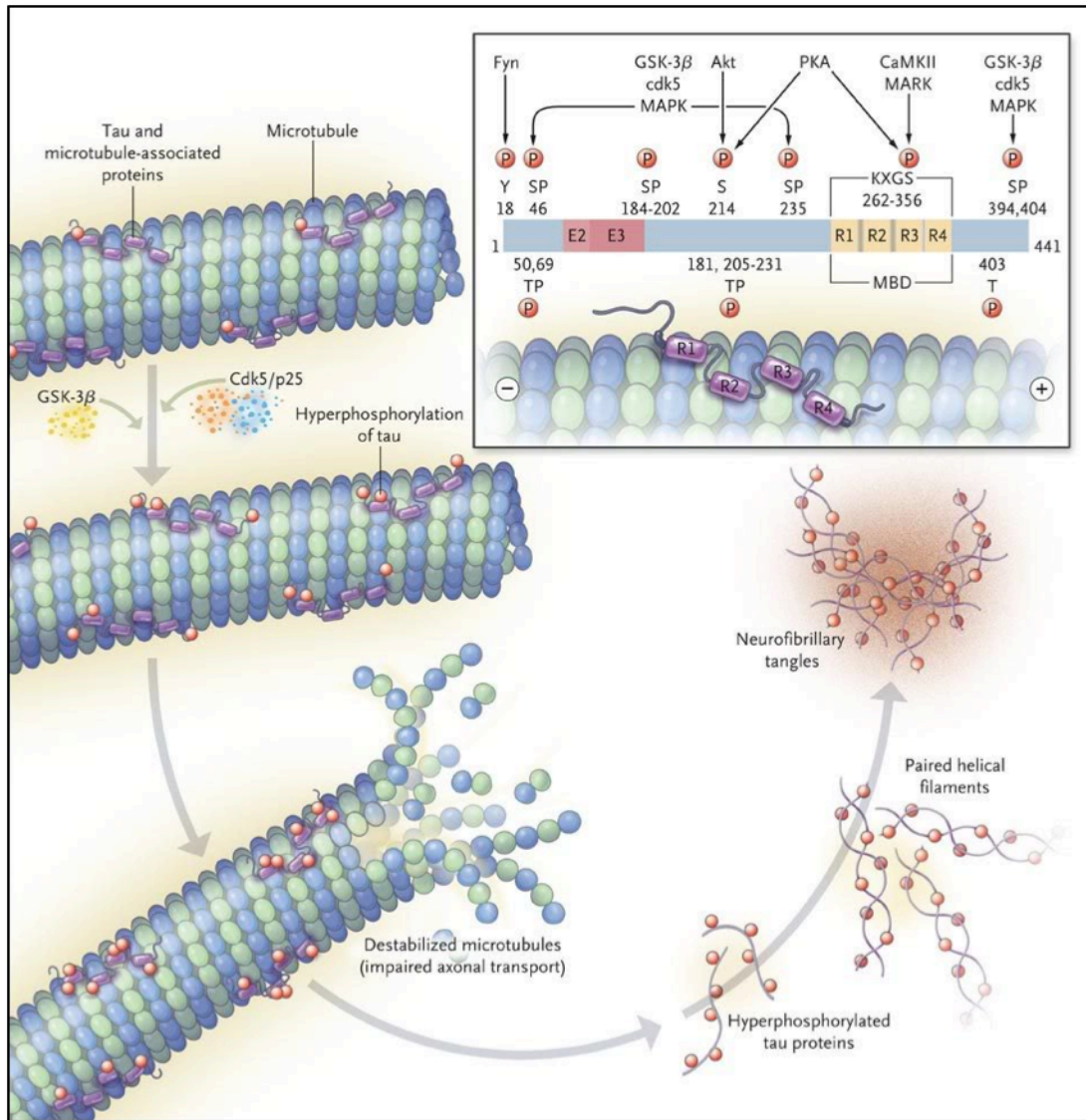
forma esquemática el papel que podrían jugar los oligómeros solubles de A $\beta$  en la cascada patofisiológica de la EA.



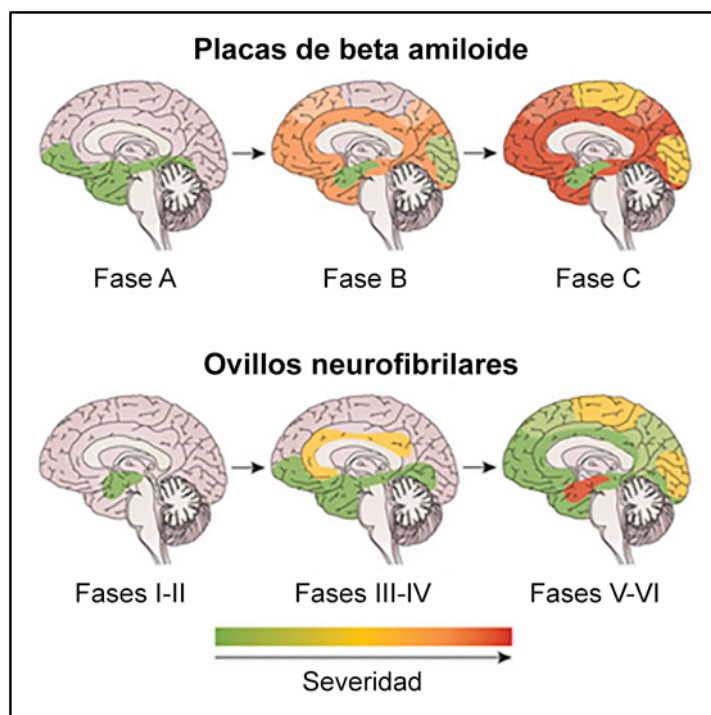
**Figura 2. Representación esquemática de la formación de placas de A $\beta$ .** La revisión de la hipótesis de la cascada amiloidea ha otorgado un papel crucial a los oligómeros de A $\beta$  en la progresión de la EA. Estos emergen como los responsables de la pérdida sináptica, del incremento del estrés oxidativo y del daño neuronal. De hecho, estos oligómeros pueden terminar alterando la función mitocondrial, llegando a activar vías relacionadas con la apoptosis. En la figura se muestra además como la apolipoproteína E4 (APOE4) podría contribuir a la patogénesis de la EA tras la generación y división de un fragmento N-terminal. Este fragmento puede aumentar la toxicidad a través de tres vías diferentes: 1) alterando la función mitocondrial por el daño producido a diferentes enzimas implicadas en la compleja cadena respiratoria; 2) promoviendo la acumulación intracelular de A $\beta$  mediante la estimulación de la recaptación de los oligómeros; e 3) induciendo la formación de elementos muy similares a los ovillos que terminarán convirtiéndose en ONF. El efecto combinado de todos estos eventos se traducirá finalmente en una mayor carga de patología, en un deterioro cognitivo más acentuado y en una progresión más rápida de la enfermedad (Rohn, 2013).

La neurotoxicidad del A $\beta$  depende a su vez de las alteraciones morfológicas de los microtúbulos que dan lugar a la formación de los ONF. Los ONF son un depósito anormal intracelular de polímeros insolubles de proteína tau que forman filamentos helicoidales. En condiciones normales, su correcta fosforilación regula el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos que conforman el citoesqueleto axonal de las neuronas y promueve su crecimiento (Drubin & Kirschner, 1986). En la EA, la proteína tau está anormalmente hiperfosforilada y pierde su capacidad para ensamblar microtúbulos, agregándose en el interior de la neurona (Iqbal *et al.*, 2009), tal como se ilustra en la **Figura 3**. Los ONF también se aprecian en otras enfermedades neurodegenerativas e incluso en el envejecimiento normal, aunque en cantidades mucho menos elevadas (Braak & Braak, 1996). Estudios realizados con tejido cerebral *post mortem* han mostrado que el deterioro cognitivo que caracteriza a la EA está más relacionado con la densidad de ONF que con la patología amiloidea (Gomez-Isla *et al.*, 1997; Bennett *et al.*, 2004).

Ambos eventos neuropatológicos, las placas seniles y los ONF, contribuyen a disminuir la densidad y eficacia sináptica e incluso pueden aumentar la muerte neuronal, aunque esto último parece depender en mayor medida de los ONF (Arriagada *et al.*, 1992). Paradójicamente, y tal como se ilustra en la **Figura 4**, la distribución regional de ambas lesiones neuropatológicas sigue caminos muy diferentes. Los procesos patológicos que dan lugar a la formación de los ONF comienzan en estructuras subcorticales como el locus ceruleus (Braak *et al.*, 2011), para luego extenderse a la corteza entorrinal hasta alcanzar la neocorteza a través del sistema límbico (Braak & Braak, 1991). Por su parte, las placas seniles comienzan a depositarse en regiones de la corteza heteromodal, extendiéndose posteriormente por la allocorteza (corteza entorrinal e hipocampo), hasta alcanzar estructuras subcorticales y del cerebro medio (Rogers & Morrison, 1985). Las regiones donde se localizan estas lesiones son precisamente las encargadas de gobernar las funciones cognitivas superiores más afectadas en la EA (Masliah & Terry, 1993; Terry *et al.*, 1991). Por el contrario, las capacidades perceptivas y motoras solo se ven afectadas al final de la enfermedad, cuando la patología alcanza áreas sensoriomotoras primarias (Braak & Braak, 1991).



**Figura 3. Representación esquemática de la formación de ONF.** La proteína tau está unida a los microtúbulos para asegurar su estabilidad. Los ONF aparecen cuando un factor desconocido promueve que tau se hiperfosforile y se disocie de los microtúbulos. En este punto, los monómeros de la proteína tau hiperfosforilada se unen para formar oligómeros (pares de filamentos helicoidales) que finalmente terminan constituyendo los ONF, causando la muerte neuronal (<http://s293.photobucket.com/user/nexavar/media/alzheimer/10f2.jpg.html>).



**Figura 4. Curso temporal de la distribución regional de las placas seniles y ONF en la EA.** Los depósitos de  $A\beta$  comienzan a acumularse en la neocorteza, principalmente en áreas del lóbulo frontal y temporal. Posteriormente se extienden al giro cingulado y a regiones del lóbulo parietal y occipital. Los ONF aparecen primero en regiones del lóbulo temporal medial y en el locus ceruleus para luego extenderse a diferentes regiones de la neocorteza. Estas lesiones terminan afectando a las áreas sensoriomotoras del giro precentral y postcentral en los estadios más avanzados de la EA. Figura modificada de Masters *et al.* (2015).

Las lesiones neuropatológicas de la EA empiezan a aparecer años antes de que surjan los primeros síntomas de la demencia, observándose cantidades considerables de patología en pacientes con DCL (Price & Morris, 1999) o incluso en personas mayores asintomáticas (Sperling *et al.*, 2009). Sin embargo, y a pesar del número de estudios realizados, aún no se ha establecido una relación temporal y causal entre las placas seniles y los ONF. A continuación se exponen algunas de las hipótesis más aceptadas.

Como se avanzó anteriormente, la hipótesis de la cascada amiloidea ha dominado el escenario de la EA durante las últimas dos décadas (Hardy & Higgins, 1992; Hardy & Selkoe, 2002). Esta hipótesis sugiere que la producción de  $A\beta$  promueve la aparición de ONF y la posterior muerte neuronal. Los estudios realizados con pacientes que padecen EA familiar constituyen el

principal sustento de esta teoría, ya que en estos casos la mutación en la APP es la causa fundamental de la enfermedad. Además, experimentos realizados en cultivos celulares han mostrado que la acumulación de A $\beta$  es neurotóxica, llegando a inducir hiperfosforilación de tau bajo ciertas circunstancias (Takashima *et al.*, 1998). La principal debilidad de esta hipótesis radica en que la presencia de A $\beta$  no tiene por qué estar necesariamente asociada a muerte neuronal o a la presencia de ONF (Joachim *et al.*, 1989; Holcomb *et al.*, 1998). De hecho, no son pocos los estudios que han informado de la presencia de placas seniles en cerebros de personas mayores cognitivamente y neurológicamente normales (Bennett *et al.*, 2006; Crystal *et al.*, 1993; Katzman *et al.*, 1988; Negash *et al.*, 2011; Price & Morris, 1999). Además, estudios recientes apuntan a que la muerte neuronal en el hipocampo y la neocorteza es significativamente mayor en pacientes con EA que en mayores asintomáticos con una carga similar de patología (Andrade-Moraes *et al.*, 2013). Estos resultados sugieren que la muerte neuronal está estrechamente relacionada con la demencia pero no con la presencia de placas seniles y ONF.

Alternativamente, se ha propuesto que cada evento neuropatológico que caracteriza a la EA sigue un curso independiente (Small & Duff, 2008). Esta hipótesis, denominada dual, postula que ambas lesiones están afectadas por la perturbación prolongada de factores comunes que inducen su aparición (Mudher & Lovestone, 2002), entre los que se encuentran las alteraciones de la plasticidad neural, que siendo inicialmente compensatoria se vuelve excesiva y desadaptativa durante el curso de la enfermedad (Jagust & Mormino, 2011; Mesulam, 1999). En favor de esta hipótesis están, por una parte, los estudios que establecen una relación entre la hiperexcitabilidad neuronal y la mayor presencia de A $\beta$  (Busche *et al.*, 2008, 2012; Xu *et al.*, 2015) y, por otra, aquellos trabajos que muestran una coincidencia espacio-temporal de los ONF en las mismas regiones donde se produce un mayor grado de plasticidad neural (Arendt *et al.*, 1998). Este hecho también recibe soporte experimental de aquellos estudios que muestran que los incrementos de plasticidad neural causados por un traumatismo cerebral generan A $\beta$  y ONF tanto en cerebros de boxeadores (Tokuda *et al.*, 1991) como en jugadores de fútbol americano (Omalu *et al.*, 2005).



La hipótesis dual ha sufrido modificaciones a raíz de evidencias recientes. Así, diferentes estudios han mostrado que aunque ambos eventos neuropatológicos, placas seniles y ONF, aparecen de forma independiente al comienzo de la enfermedad, terminan entrecruzándose durante su progresión. Primero aparece la taupatía subcortical, aunque ésta parece no ser suficiente para desencadenar la EA. Posteriormente, emergen de manera independiente las placas seniles en regiones corticales (Jack & Holtzman, 2013; Musiek & Holtzman, 2015). Algunos autores han sugerido que los agregados de A $\beta$  podrían facilitar, a través de mecanismos aún por determinar, la propagación de los ONF desde áreas límbicas hacia regiones corticales (Price & Morris, 1999). Se ha propuesto que el mecanismo mediante el cual A $\beta$  provocaría la hiperfosforilación de tau y la consiguiente formación de los ONF sería mediante la alteración de la actividad de la quinasa CDK5 (Lee & Tsai, 2003; ver **Figura 2**). Estos hallazgos han alimentado la metáfora que equipara las placas seniles con el gatillo de la pistola y los ONF con la bala (Bloom *et al.*, 2014). En resumen, a pesar de que las placas de A $\beta$  y los ONF son los elementos fundamentales de la neuropatología de la EA, evidencias procedentes de diferentes fuentes confirman que cada uno de ellos por separado no son suficientes para determinar la aparición de la enfermedad (Vos *et al.*, 2013; Mormino *et al.*, 2014).

Existen hipótesis menos influyentes, pero no por ello menos relevantes, que sugieren que ambas lesiones son meros subproductos de otros eventos intracelulares más inespecíficos. Entre estos eventos se encontrarían los procesos relacionados con la reparación de la mielina que se producen de manera inevitable durante el envejecimiento (Bartzokis, 2011), el estrés oxidativo considerado por algunos como el principal detonante de la aparición de las placas de A $\beta$  (Lee *et al.*, 2004; Nunomura *et al.*, 2001), o las alteraciones en procesos relacionados con células de la glía y células vasculares, y la consiguiente disfunción del ciclo celular provocada por la interacción entre estos elementos (De Strooper & Karran, 2016). Esto es solo una muestra de la complejidad asociada a la etiopatología de la EA y las dificultades existentes para establecer la frontera biológica entre el envejecimiento normal y las fases más incipientes de dicha enfermedad.

### 1.1.3. Factores de riesgo

Los posibles mecanismos etiopatogénicos expuestos en el apartado anterior están a su vez sujetos a la influencia de numerosos factores de riesgo. Estos factores de riesgo se dividen en dos categorías, modificables y no modificables, siendo la interacción entre ambos lo que probablemente determinará la progresión de la EA.

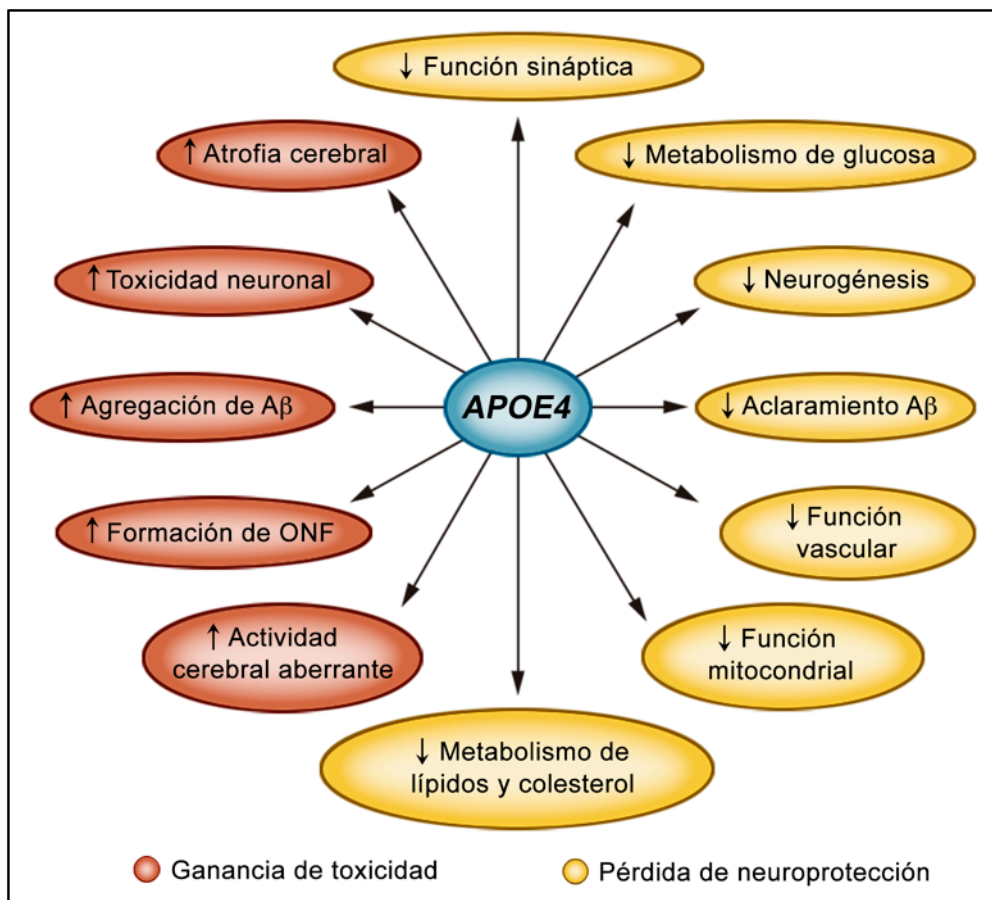
Los factores modificables han recibido una especial atención dada su importancia en la prevención. Destacan el tabaquismo, la hipertensión, la diabetes, la depresión, la obesidad, el bajo nivel educativo y la vida sedentaria (Bernes & Yaffe, 2011; Xu *et al.*, 2015). Estos factores estarían modulados por la reserva cognitiva que podría contrarrestar la progresión del deterioro cognitivo durante los estadios asintomáticos de la EA (Borroni *et al.*, 2012). Se estima que casi la mitad de los casos de EA en el mundo se podrían atribuir a estos factores de riesgo modificables y que, por tanto, si se redujeran en un 25% se disminuiría en 1,4 millones de personas la prevalencia mundial de esta enfermedad (Bernes & Yaffe, 2011).

Por otra parte están los factores no modificables que también han mostrado exacerbar la patología de la EA. En primer lugar, destaca la edad como principal factor de riesgo (Lindsay *et al.*, 2002). Este riesgo aumenta incluso en etapas muy avanzadas del ciclo vital, observándose en un 25-50% de las personas que superan los 85 años (Kawas & Katzman, 1999; Rocca *et al.*, 1998). Estudios neuropatológicos han descrito que la acumulación de placas seniles en individuos sanos incrementa un 18-23% entre los 60-69 años, un 25-37% entre los 70-79 años, alcanzando hasta un 30-65% pasados los 80 años (Jack *et al.*, 2014; Morris *et al.*, 2010; Rowe *et al.*, 2010). Por otra parte, el volumen del hipocampo también disminuye progresivamente con la edad. La tasa de atrofia anual del hipocampo se encuentra entre el 0,79 y 2% a partir de los 60 años (Fjell *et al.*, 2014), y alcanza un 24% o un 42% hacia los 89 años según se acompañe de una baja o alta carga de A $\beta$ , respectivamente (Jack *et al.*, 2014). Sin embargo, aún cuando la edad sea el factor de riesgo más importante para desarrollar EA, no existe una relación causal demostrada entre la presencia de lesiones de la EA y el envejecimiento.

En segundo lugar, portar el alelo  $\epsilon 4$  del gen *APOE* (*APOE4*) representa el factor de riesgo genético más importante para desarrollar EA de tipo esporádico o de inicio tardío (Corder *et al.*, 1993), hecho que ha sido corroborado por diferentes estudios del genoma completo (GWAS, Genome-wide association study en inglés) (Harold *et al.*, 2009; Lambert *et al.*, 2009). El gen *APOE* codifica la apolipoproteína E (ApoE) en el cromosoma 19. *APOE* es un gen polimórfico, con tres alelos principales,  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$ , que dan lugar a 6 genotipos, tres homocigotos ( $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) y otros tres heterocigóticos ( $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ ) (Zannis *et al.*, 1982). El alelo  $\epsilon 3$  es el más frecuente seguido por  $\epsilon 4$  y  $\epsilon 2$ , aunque sus frecuencias varían entre poblaciones (Corbo & Scacchi, 1999). La prevalencia del alelo  $\epsilon 4$  ha mostrado ser superior en pacientes con DCL (Boyle *et al.*, 2009) y con EA (Corder *et al.*, 1993) que en personas mayores sanas. De hecho, estudios previos han mostrado que la EA afecta al 47% de las personas mayores con una copia y al 91% que portan dos copias del alelo  $\epsilon 4$  (Corder *et al.*, 1993). Esclarecer las funciones de la proteína ApoE podría contribuir a entender mejor los mecanismos responsables de las asociaciones entre el genotipo *APOE4* y la predisposición a padecer EA.

Los astrocitos son los principales productores de la proteína ApoE en el cerebro (Bu, 2009). Como ilustra de manera esquemática en la **Figura 5**, la proteína ApoE se encarga de transportar el colesterol y los fosfolípidos a las neuronas y de reparar el daño tisular, promoviendo el crecimiento neuronal y la sinaptogénesis. Además, desempeña un papel esencial en el metabolismo de la glucosa, la neuroinflamación y la función mitocondrial (Liu *et al.*, 2013; Mesulam, 1999). Por otra parte, la proteína ApoE participa activamente en el metabolismo y agregación del A $\beta$  debido a que ambas proteínas, A $\beta$  y ApoE, compiten por el mismo mecanismo de aclaramiento (Verghese *et al.*, 2013). La acumulación de A $\beta$  es dependiente de la isoforma del gen *APOE*, estando el alelo  $\epsilon 4$  relacionado con una mayor acumulación (Kok *et al.*, 2009) tanto en adultos normales desde un punto de vista cognitivo (Jansen *et al.*, 2015; Morishima-Kawashima *et al.*, 2000; Reiman *et al.*, 2009) como en pacientes con DCL (Bangen *et al.*, 2016). Así, trabajos previos han mostrado que personas mayores normales de 55 años con el genotipo *APOE4* presentan la misma carga cerebral de A $\beta$  que individuos de alrededor de 75 años que no portan este genotipo (Fleisher *et al.*, 2013).

Por otra parte, la producción de ONF también está ligada al genotipo *APOE4*, observándose un incremento de ONF en adultos jóvenes portadores del alelo  $\epsilon 4$  (Braak & Del Tredici, 2011; Ghebremedhin *et al.*, 1998). Esta relación parece estar a su vez modulada por la presencia de agregados de  $A\beta$ , existiendo una asociación entre el alelo  $\epsilon 4$  y la aparición de ONF solamente en aquellos sujetos que además presentan placas seniles (Farfel *et al.*, 2016).



**Figura 5. Papel del genotipo *APOE4* en la patogénesis de la EA.** El genotipo *APOE4* aumenta la neurotoxicidad (mostrado en rojo en el panel izquierdo) y deteriora determinadas funciones fisiológicas esenciales (mostrado en amarillo en el panel derecho). *APOE4* incrementa la acumulación de  $A\beta$  que se adhiere a la pared vascular. La hiperexcitabilidad neuronal podría incluso preceder a las placas de  $A\beta$ , lo que exacerbaría su producción e incrementaría la neurotoxicidad, causando en última instancia una disminución del metabolismo neuronal y de la actividad sináptica seguido de un aumento de la neuroinflamación. El genotipo *APOE4* se relaciona también con un mayor nivel de atrofia en regiones importantes para la memoria como el hipocampo, probablemente debido a una mayor hiperfosforilación de tau y a una disminución de la neurogénesis en esta región. Figura modificada de Liu *et al.* (2013).

El *APOE4* también se relaciona con otras alteraciones que acompañan a la EA, como la muerte neuronal, las disfunciones sinápticas, el daño oxidativo, el deterioro de la función colinérgica, y los cambios en la homeostasis neuronal y en el transporte de lípidos (Cedazo-Mínguez & Cowburn, 2001). Dado que la principal función del gen *APOE* se relaciona precisamente con el transporte de lípidos, los portadores de *APOE4* presentan consecuentemente niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Sing & Davignon, 1985), lo que a su vez incrementa el riesgo de desarrollar EA. Además, estudios recientes han mostrado una asociación entre el incremento de los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el aumento de la conectividad funcional EEG en pacientes con DCLa (González-Escamilla *et al.*, 2016), por lo que este otro tipo de colesterol podría mejorar la función cerebral incluso en las fases prodrómicas de la EA. Desafortunadamente, los ensayos clínicos que han suministrado estatinas con el objetivo de disminuir los niveles de LDL no han reducido el riesgo de desarrollar EA (McGuinness *et al.*, 2014).

En lo que respecta al deterioro cognitivo, el genotipo *APOE4* ha mostrado ejercer una influencia negativa en pacientes con EA leve (Cosentino *et al.*, 2008), especialmente en homocigotos para el alelo  $\epsilon 4$  (Whitehair *et al.*, 2010). La memoria episódica es con diferencia la función más afectada (De Blasi *et al.*, 2009; Nilsson *et al.*, 2006), iniciándose este deterioro alrededor de los 60 años en los heterocigotos y hacia los 50 años en los homocigotos (Caselli *et al.*, 2009). A este hecho podría contribuir la pronunciada reducción del volumen del hipocampo (Cohen *et al.*, 2001; Cosentino *et al.*, 2008; Hua *et al.*, 2008; Lind *et al.*, 2006; Reiman *et al.*, 1998), una de las regiones cerebrales más importantes para la memoria episódica, y la reducción del espesor cortical en áreas de asociación relacionadas con la memoria (Fennema-Notestine *et al.*, 2011; Goñi *et al.*, 2013). Además de estos cambios cerebrales estructurales, el genotipo *APOE4* ha mostrado también afectar a los patrones de conectividad funcional entre distintas regiones de la corteza cerebral en diferentes momentos del ciclo vital (e.g., Fillipini *et al.*, 2011) y en pacientes con DCLa (e.g., González-Escamilla *et al.*, 2015).

A pesar de la ingente cantidad de trabajos dedicados a evaluar la contribución del genotipo *APOE4* al desarrollo de la EA, aún son muchas las cuestiones abiertas. El presente trabajo de Tesis tratará de arrojar luz sobre la influencia de este genotipo en los mecanismos corticales que subyacen a los procesos de memoria durante la fase prodrómica de la EA.

## **1.2. El Deterioro Cognitivo Leve (DCL)**

Los nuevos criterios diagnósticos de la EA propuestos por la Asociación Americana de Alzheimer y por el Instituto Nacional sobre Envejecimiento distinguen tres fases en la progresión de la enfermedad en función del grado de deterioro cognitivo y de la presencia de diferentes biomarcadores (Hyman *et al.*, 2012): (i) fase preclínica caracterizada por la presencia de biomarcadores positivos para la EA en ausencia de deterioro cognitivo objetivo (Sperling *et al.*, 2011), (ii) fase prodrómica caracterizada por la presencia de biomarcadores positivos para la EA en presencia de deterioro cognitivo leve objetivo (Albert *et al.*, 2011) y (iii) fase de demencia, en la que los biomarcadores positivos para la EA se ven acompañados de una afectación cognitiva que interfiere con las actividades de la vida diaria (McKhann *et al.*, 2011). Los experimentos realizados en este trabajo de Tesis se han centrado en el DCL por considerarse la etapa intermedia entre el envejecimiento normal y la EA, y por ser la fase en donde la patología al no estar ampliamente extendida podría ser potencialmente reversible.

### **1.2.1. Concepto de DCL y tipología**

La fase prodrómica de la EA ha acaparado la atención de un gran número de investigadores en las dos últimas décadas. Una búsqueda bibliográfica en la base de datos Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) incluyendo el término “mild cognitive impairment” arroja alrededor de 11.200 resultados, lo que da una idea de la relevancia del tema desde diferentes perspectivas.

El concepto de DCL ha sufrido una evolución importante en las últimas décadas. La primera aproximación a este término vino de la mano del psiquiatra Vojtech Adalbert Kral (Kral, 1962), quien denominó "olvidos senescentes benignos" a los cambios en la memoria asociados al envejecimiento. Sin embargo, no es hasta finales de los ochenta cuando dichos cambios comienzan a considerarse como parte del proceso asociado al desarrollo de la EA (Reisberg *et al.*, 1988). A finales de los años 90, Ronald Petersen, neurólogo de la Clínica Mayo en Rochester (USA), realizó un estudio longitudinal con dos grupos de individuos mayores de 65 años: un grupo estaba formado por sujetos cognitivamente y neurológicamente sanos y el otro por personas que presentaban un deterioro objetivo de la memoria que sin embargo no interfería con las actividades de la vida diaria. Después de un seguimiento de 6 años, se observó que el 80% de los sujetos con deterioro objetivo de la memoria habían desarrollado EA, resultado que contrastó con el 2% de individuos normales que fueron diagnosticados con EA en el mismo período de tiempo (Petersen *et al.*, 1999). A raíz de esta investigación, el DCL se define como un síndrome caracterizado por la presencia de un deterioro de la memoria más acentuado que el mostrado por una persona de la misma edad y nivel educativo, sin que se vean afectados otros dominios cognitivos ni alteradas las actividades de la vida diaria (Petersen *et al.*, 1999).

Posteriormente, los criterios diagnósticos de DCL terminarán incluyendo la afectación de otros dominios cognitivos distintos de la memoria (Petersen, 2004). Es entonces cuando el DCL comienza a clasificarse según el número de dominios afectados (DCL de dominio único o múltiple) y según la presencia de alteraciones en la memoria (DCL amnésico) o en otros dominios como la función ejecutiva, lenguaje o procesamiento visuoespacial (DCL no amnésico). Esta clasificación puso de manifiesto que los individuos con DCL amnésico (DCLa) de dominio único o múltiple presentaban una mayor probabilidad de desarrollar EA (Espinosa *et al.*, 2013), mientras que aquellos con DCL no amnésico tenían una mayor predisposición a presentar otros tipos de demencias degenerativas, como la demencia por cuerpos de Lewy o la demencia frontotemporal (de Mendonça *et al.*, 2004; Ferman *et al.*, 2013).

En contextos de investigación y de cara a ensayos clínicos, los criterios diagnósticos de DCL se complementan con biomarcadores cuyo objetivo fundamental es detectar y cuantificar in vivo el proceso fisiopatológico de la fase prodrómica de la EA (Dubois *et al.*, 2007). Dado que el DCLa y la EA representan distintas etapas dentro de un mismo continuo, ambas entidades comparten los mismos biomarcadores: i) disminución de los niveles de A $\beta$ 1-42 junto con un aumento de la concentración de tau total (t-tau) y/o tau fosforilada (p-tau) en líquido cefalorraquídeo (LCR); ii) aumento de la retención cerebral de A $\beta$  medido mediante radiotrazadores PET; iii) hipometabolismo en regiones temporo-parietales determinado mediante PET de fluorodesoxiglucosa (FDG); y iv) presencia de atrofia en regiones del lóbulo temporal medial, como el hipocampo y/o la amígdala, identificada mediante imágenes de resonancia magnética (RM) estructural (Dubois *et al.*, 2014). Desde esta perspectiva, un individuo que cumpla los criterios de DCL y que además presente una cierta carga de A $\beta$  cerebral y daño neural tendrá una mayor probabilidad de que dicho deterioro cognitivo esté causado por la patología que subyace a la EA (Albert *et al.*, 2011). Además, estudios recientes han mostrado que el 55% de los pacientes diagnosticados con DCLa muestran placas de A $\beta$  y marcadores positivos de neurodegeneración en comparación con el 43% de los pacientes con DCL no amnésico (Petersen *et al.*, 2013), sugiriendo que los pacientes con DCLa tienen más probabilidad de desarrollar EA que los DCL que no presentan déficits de memoria.

En resumen, incluir diferentes biomarcadores como parte de los criterios diagnósticos permite entender la EA como una entidad clínico-biológica y, además, establecer las condiciones idóneas para realizar un diagnóstico cada vez más temprano y preciso, dado que las alteraciones moleculares y estructurales preceden a las alteraciones cognitivas en el curso de la enfermedad (Jack & Holtzman, 2013).

### **1.2.2. Alteraciones de la memoria en el DCL de tipo amnésico (DCLa)**

Las estructuras cerebrales implicadas en los procesos de memoria episódica son las que primero se ven afectadas en la EA (Wang *et al.*, 2016). No es de extrañar, por tanto, que la



memoria episódica sea la función cognitiva más deteriorada en las fases prodrómicas de la enfermedad (Bäckman *et al.*, 2005). La memoria episódica hace referencia a la recuperación consciente del contexto temporal y/o espacial de eventos que están directamente relacionados con nuestra experiencia personal (Tulving, 1972). Las alteraciones de la memoria episódica asociadas al DCL han sido puestas de manifiesto utilizando una amplia gama de paradigmas que incluyen reconocimiento, claves contextuales y recuerdo libre (Irish *et al.*, 2011; Perri *et al.*, 2005; Troyer *et al.*, 2008), tanto si el paciente es previamente informado de que tiene que memorizar el material (Hudon *et al.*, 2006) como si no (Atienza *et al.*, 2011a). No obstante, el déficit episódico puede reducirse significativamente si los pacientes reciben entrenamiento cognitivo (Belleville *et al.*, 2016; Simon *et al.*, 2012) o instrucciones muy precisas sobre la estrategia a utilizar durante la codificación (Balardin *et al.*, 2015).

Un aspecto fundamental de la memoria episódica es el componente asociativo, que hace referencia a la capacidad para integrar diferentes elementos en un único evento, ya sea mediante relaciones espaciales, temporales o semánticas. Aunque esta capacidad ya se ve afectada en el envejecimiento normal (Naveh-Benjamin, 2000), está sensiblemente deteriorada en pacientes con DCLa (Fowler *et al.*, 2002; Troyer *et al.*, 2008, 2012), aspecto que podría explicarse, al menos parcialmente, por la atrofia del hipocampo y de la corteza entorrinal (Atienza *et al.*, 2011a; Troyer *et al.*, 2012), dos regiones críticas para la formación de nuevas asociaciones (Yonelinas *et al.*, 2001). De hecho, la dificultad para relacionar un evento con su contexto temporal podrían derivar en un aumento de la interferencia proactiva y retroactiva en los pacientes con DCLa (Loewenstein *et al.*, 2004).

Se desconoce si las alteraciones de la memoria episódica en el DCLa son más evidentes en la fase de codificación, consolidación o recuperación de la información. Una de las hipótesis más extendidas postula que el problema se encuentra en los mecanismos de codificación, siendo la causa principal una pérdida de eficiencia en el uso de estrategias cognitivas, tales como la organización del contenido en función del componente semántico (Moscovitch & Craik, 1976). De acuerdo con esta hipótesis, se ha observado que la memoria no mejora tras utilizar

estrategias semánticas, al menos cuando estas se generan de forma espontánea (Balardin *et al.*, 2015; Brum *et al.*, 2013; Perri *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2007). Por el contrario, la ejecución mejora considerablemente cuando los pacientes con DCL son entrenados en el uso de dichas estrategias, llegando a equipararse a la mostrada por personas mayores normales (Balardin *et al.*, 2015).

Las dificultades que encuentran los pacientes con DCLa para usar este tipo de estrategias de forma espontánea podrían estar causadas por la presencia de alteraciones en la memoria semántica, que engloba el conocimiento general del mundo (Tulving, 1972). Dichas alteraciones son más evidentes cuando el conocimiento se refiere a entidades únicas como personas famosas, eventos históricos y edificios, que cuando hace referencia a entidades generales como los objetos (Ahmed *et al.*, 2008; Barbeau *et al.*, 2012; Dudas *et al.*, 2005; Estévez-González *et al.*, 2004; Joubert *et al.*, 2008; Murphy *et al.*, 2006; Seidenberg *et al.*, 2009). Sin embargo, las alteraciones de la memoria semántica ni se muestran en todos los pacientes con DCLa (Ahmed *et al.*, 2008; Joubert *et al.*, 2008) ni se extienden a todos los aspectos de la información, manteniéndose intacta cuando se trata de hechos autobiográficos (Murphy *et al.*, 2008).

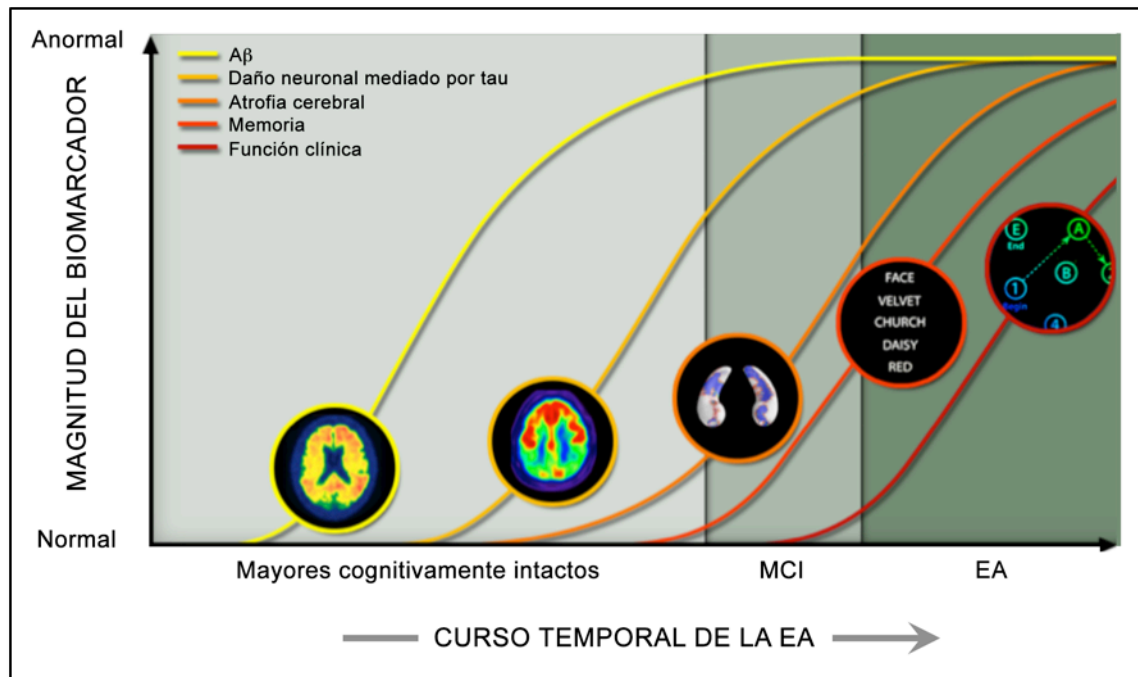
Dado que los pacientes con DCLa tienen más afectada la memoria demorada que la inmediata (Goldman *et al.*, 2001; Petersen *et al.*, 1994), cabe la posibilidad de que muestren más dificultades a la hora de consolidar o recuperar la información almacenada previamente. En el caso de que fueran los mecanismos de consolidación los más afectados, estos pacientes deberían mostrar un mayor olvido con el paso del tiempo respecto a los controles. Trabajos recientes han confirmado esta hipótesis, mostrando que a pesar de que los niveles de adquisición son comparables entre ambos grupos, los DCLa olvidan más que los controles transcurrida una semana (Walsh *et al.*, 2014). Ello podría deberse a que estados cerebrales como el sueño de ondas lentas y el sueño REM, implicados en la consolidación de nuevas memorias (e.g., Abel *et al.*, 2013), no solo se hallan alterados en el DCLa (Hita-Yáñez *et al.*, 2012) sino que además guardan una estrecha relación con el incremento de las

concentraciones periféricas de A $\beta$  y con la disminución de espesor cortical que caracteriza a estos pacientes (Sánchez-Espinosa *et al.*, 2014; para una revisión ver Mander *et al.*, 2016). Además, los procesos de recuperación también se encuentran significativamente afectados en los pacientes con DCLa, ya que recuerdan peor que los controles cuando se utilizan claves que facilitan el acceso a la información (Perri *et al.*, 2015). Estos problemas de recuperación se asocian a su vez con el grado de atrofia del hipocampo y de otras regiones afectadas por la EA (Perri *et al.*, 2015).

### **1.2.3. Biomarcadores predictores de la conversión de DCL a EA**

Los pacientes con DCLa presentan un mayor riesgo de padecer EA que el resto de la población (Busse *et al.*, 2006), llegando a alcanzar una tasa de conversión del 80% seis años después del diagnóstico original (Petersen *et al.*, 1999). Sin embargo, no todos ellos terminan desarrollando EA (Koepsell & Monsell, 2012; Larrieu *et al.*, 2002; Ritchie *et al.*, 2001) ni todos evolucionan hacia la EA al mismo ritmo (Maioli *et al.*, 2007). En este contexto, la identificación de biomarcadores capaces de predecir la evolución de la enfermedad desde sus fases más incipientes adquiere una gran relevancia clínica. Sin embargo, podría darse el caso que los biomarcadores predictores de las fases prodrómicas y de la EA no fueran los mismos, tal como se ilustra en la **Figura 6** (Sperling *et al.*, 2011).

La **Figura 6** pone de manifiesto que los biomarcadores relacionados con A $\beta$  y con la proteína tau son buenos predictores en las fases preclínicas de la EA, mientras que los marcadores de neurodegeneración (*i.e.*, hipometabolismo cortical y atrofia cerebral) y las alteraciones de la memoria tienen una mayor capacidad predictiva durante las fases prodrómicas y clínicas de la EA, una vez que aparecen los primeros síntomas de la enfermedad. Teniendo en cuenta los objetivos del presente trabajo, a continuación revisaremos los biomarcadores que han mostrado capacidad para predecir la conversión de DCL a EA.



**Figura 6. Capacidad predictiva de diferentes biomarcadores en el curso temporal de la EA.** Los biomarcadores basados en la patología asociada al A $\beta$  y a la proteína tau presentan mejor capacidad predictiva en las fases preclínicas, mientras que la atrofia cerebral y las alteraciones de memoria son más útiles a la hora de predecir la EA en la fase prodrómica, cuando los primeros síntomas ya han aparecido. Figura modificada de Sperling *et al.* (2013).

En pacientes con DCL, la ejecución en las pruebas de memoria demorada suele ser 1,5 desviaciones estándar inferior a la media de sus respectivos controles (Petersen, 2004). De hecho, numerosos estudios longitudinales han mostrado buenos índices de precisión, sensibilidad y especificidad a la hora de predecir la conversión a EA a partir de este tipo de pruebas (e.g., Grober *et al.*, 2000; Kluger *et al.*, 1999; Rami *et al.*, 2007; Tierney *et al.*, 1996, 2005; para una revisión ver Gainotti *et al.*, 2014). Sin embargo, a día de hoy, son pocos los estudios que han incluido en sus modelos predictivos los ocho dominios cognitivos sugeridos por el Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y de la Comunicación y por la Asociación Americana de Alzheimer (NINCDS-ADRDA) (Bäckman *et al.*, 2005). Chapman *et al.* (2010) establecieron mediante análisis de componentes independientes un índice neuropsicológico que incluía todos estos dominios. Este método mostró un 84% de precisión a la hora de predecir la conversión de DCL a EA, con una sensibilidad de 0,86 y una especificidad de 0,83,

resultados que ya fueron observados utilizando una aproximación multivariada similar (Marcos *et al.*, 2006). Las aproximaciones univariadas que se centran exclusivamente en la memoria han mostrado una menor sensibilidad y especificidad (Lekeu *et al.*, 2010; Perri *et al.*, 2007; Tierney *et al.*, 2005). No obstante, dichos índices mejoran sensiblemente cuando la memoria se combina con una medida de la función ejecutiva (Marcos *et al.*, 2006; Rozzini *et al.*, 2008; Tabert *et al.*, 2006), y aún más si se combina con biomarcadores relacionados con la estructura cerebral o con la patología asociada al A $\beta$  y/o a la proteína tau (Dubois *et al.*, 2007, 2010).

Estudios previos han puesto de manifiesto que el deterioro de la memoria en pacientes con DCL se relaciona con la muerte neuronal especialmente en regiones parieto-temporales (Di Paola *et al.*, 2007; Fujishima *et al.*, 2014; Sarazin *et al.*, 2010). Por lo tanto, es razonable pensar que la evolución de la atrofia en estas áreas corticales podría ser un excelente predictor del desarrollo de la EA (e.g., Davatzikos *et al.*, 2011; Eskildsen *et al.*, 2013; Plant *et al.*, 2010). Las atrofas que afectan a regiones del lóbulo temporal medial son especialmente sensibles a la progresión de la EA (e.g., Killiany *et al.*, 2000), llegando a predecir la conversión incluso 4 años antes del diagnóstico (Adaszewski *et al.*, 2013). Dada la enorme variabilidad que presentan estas estructuras cerebrales, su utilidad se limita a evaluaciones individuales, de ahí que la combinación con otros marcadores pueda incrementar su validez.

Los pacientes con DCLa también presentan alteraciones de la microestructura de la sustancia blanca (Alves *et al.*, 2012, Bosch *et al.*, 2012; Douaud *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2011; Medina *et al.*, 2006), compartimento cerebral que contiene los axones neuronales que proyectan a diferentes regiones corticales y subcorticales. Los tractos de sustancia blanca más afectados son los que conectan regiones implicadas en los procesos de memoria como la corteza parahipocampal, el lóbulo temporal, el esplenium del cuerpo calloso y la corteza cingulada posterior (Chua *et al.*, 2008). De hecho, estas alteraciones de la sustancia blanca se han relacionado con el deterioro de la memoria episódica en pacientes con DCL (Fujishima *et al.*, 2014) y con una disminución del espesor de la corteza frontal, lo cual se ha asociado a su vez con un deterioro de la función ejecutiva (Seo *et al.*, 2012). En línea con estos hallazgos, otros

trabajos han mostrado que el daño de la sustancia blanca, especialmente en el hipocampo, es un magnífico predictor de la EA, capaz de arrojar por sí solo mejores resultados que otros biomarcadores de RM (Douaud *et al.*, 2013; Fellgiebel & Yakushev, 2011; Selnes *et al.*, 2013). Aún así, los modelos que predicen mejor la conversión a EA incluyen biomarcadores basados en la RM y en LCR (*i.e.*, A $\beta$ 1-42, t-tau y p-tau) (Douaud *et al.*, 2013; Selnes *et al.*, 2013). Este hecho resulta especialmente relevante si consideramos que los niveles de A $\beta$ 1-42 en LCR son, independientemente del diagnóstico clínico, un excelente marcador de la carga de amiloide cerebral determinada mediante PET con el radiotrazador Pittsburgh compound B (PiB) (Fagan *et al.*, 2006, 2007; Forsberg *et al.*, 2008; Jagust *et al.*, 2009; Koivunen *et al.*, 2008), dado que la retención regional de PiB está estrechamente ligada a la presencia de placas de A $\beta$  detectadas directamente a partir de cerebros post mortem (Clark *et al.*, 2011). Además, diversos estudios han confirmado que la retención de PiB en la corteza frontal y en la corteza cingulada anterior y posterior es más evidente en aquellos individuos que evolucionan más rápido a EA (Brück *et al.*, 2013; Okello *et al.*, 2009).

Una técnica no invasiva que no solo supone una gran ventaja en términos económicos, sino también en lo que respecta a la evaluación directa de la función sináptica cortical, es el EEG. Dado que las primeras placas seniles afectan a las neuronas piramidales de las capas III y V de la corteza causando disfunciones sinápticas desde estadios muy tempranos de la EA (Shankar & Walsh, 2009), las oscilaciones EEG podrían ser un potencial biomarcador de la conversión a la EA. Estudios previos han mostrado que los cambios observados durante el estado de reposo cerebral permiten predecir la progresión a EA (Buscema *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2000; Luckhaus *et al.*, 2008; Moretti *et al.*, 2011; Poil *et al.*, 2013; Prichep *et al.*, 2006; Rossini *et al.*, 2006). Estos trabajos revelan que los pacientes con DCLa que evolucionan a EA presentan un incremento de potencia espectral en las frecuencias más lentas del EEG, una disminución en las frecuencias más rápidas y una localización más anterior de ambos tipos de oscilaciones (Huang *et al.*, 2000). A pesar de lo prometedores de estos resultados, las oscilaciones EEG no aparecen incluidas en los últimos criterios diagnósticos de la EA (Albert *et al.*, 2011; McKhann *et al.*, 2011).

A continuación se expondrán los principales cambios que muestran las oscilaciones EEG durante las fases prodrómicas de la EA.

### **1.3. Cambios en las oscilaciones EEG asociados al DCLa**

La técnica del EEG permite registrar a nivel macroscópico los potenciales postsinápticos generados por grandes poblaciones de neuronas piramidales en la corteza cerebral. Las oscilaciones EEG reflejan los códigos neurales que emplea la corteza cerebral para representar la información a nivel local y establecer comunicación entre regiones distantes. Esto es posible gracias a un complejo sistema en el que diferentes ensamblajes de neuronas oscilan en múltiples frecuencias, en un contexto donde el procesamiento de la información se realiza de forma paralela (Llinás, 1988; Steriade *et al.*, 2001).

A medida que se progresa en el continuo envejecimiento-EA se producen cambios significativos en la dinámica de las oscilaciones EEG. Para empezar, el ritmo alfa (8-12,5 Hz) muestra un enlentecimiento en regiones posteriores de la corteza y la potencia espectral en las bandas de frecuencia alfa y beta (13-30 Hz) disminuye a medida que incrementa la potencia de las bandas delta (0,5-3,5 Hz) y theta (4-7,5 Hz) (Van Cott & Brenner, 2005). Dichos cambios no son un epifenómeno de la EA, sino que están asociados a la disfunción sináptica, muerte neuronal y deterioro cognitivo que se produce con la evolución de la enfermedad (Serrano-Pozo *et al.*, 2011; Kowalski *et al.*, 2001). De hecho, las alteraciones del EEG se han relacionado con atrofas tanto corticales como subcorticales en pacientes con DCL y EA (Babiloni *et al.*, 2009a; Fernández *et al.*, 2003; Grunwald *et al.*, 2007; Moretti *et al.*, 2007, 2011; González-Escamilla *et al.*, 2016), aspecto que se ve agravado por la presencia del genotipo *APOE4* (Babiloni *et al.*, 2006b; González-Escamilla *et al.*, 2015; Jelic *et al.*, 1997; Lehtovirta *et al.*, 1996, 2000).

Aunque se desconocen las causas que subyacen a las alteraciones de las oscilaciones EEG en la EA, resultados derivados de estudios con modelos animales revelan que la producción de A $\beta$  desestabiliza la actividad neural, desencadenando una disminución de oscilaciones theta a

corto y largo plazo (Peña-Ortega & Bernal-Pedraza, 2012; Villette *et al.*, 2010). Por otra parte, la exposición prolongada y el incremento de la carga de A $\beta$  parece ser condición suficiente para inducir actividad epileptiforme in vivo en modelos animales de Alzheimer y en pacientes con EA familiar (Palop *et al.*, 2007; Palop & Mucke, 2010), así como en pacientes con síndrome de Down que desarrollan EA (Lai & Williams, 1989) e incluso en el 5-20% de personas que desarrollan EA esporádica (Palop & Mucke, 2009). A esto se une el hecho de que los patrones de conectividad funcional entre distintas áreas corticales en diversas bandas de frecuencia también pueden verse afectados por los niveles de A $\beta$  y tau en pacientes con DCL (Canuet *et al.*, 2015). Todos estos resultados ponen de manifiesto que las alteraciones sinápticas que subyacen al DCL/EA pueden identificarse mediante técnicas no invasivas como el EEG, por lo que su uso podría suponer un avance importante para el diagnóstico temprano de la EA.



## ***2. PLANTEAMIENTO DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS***

---



## 2. PLANTEAMIENTO DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1. Planteamiento general de los objetivos

A pesar de que nuestro conocimiento sobre la EA ha mejorado drásticamente en los últimos años, ni se conocen aún los factores que desencadenan los mecanismos patológicos de esta enfermedad ni se dispone de terapias farmacológicas con capacidad para modificar la trayectoria de la EA y/o frenar la sintomatología subyacente. La literatura revisada en la Introducción apunta a que las disfunciones sinápticas podrían causar el deterioro de la memoria que precede al diagnóstico de la EA, y que dichas disfunciones podrían deberse a la toxicidad generada por los oligómeros solubles de A $\beta$  (Gandy *et al.*, 2010; Hsia *et al.*, 1999; Mucke *et al.*, 2000; Palop & Mucke, 2010). Las diferentes estrategias empleadas para disminuir los niveles de A $\beta$  no solo no han resultado eficaces sino que en ocasiones han tenido un efecto perjudicial sobre la función cognitiva (Mikulca *et al.*, 2014). Esto podría deberse a varias razones. Por una parte, es posible que los inhibidores de las  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas no estén actuando sobre los elementos etiopatogénicos de la EA y, por otra, podría ocurrir que dichos inhibidores se estén administrando en un momento inapropiado, cuando el daño neuronal es ya demasiado extenso e incluso irreversible (Hamm *et al.*, 2015). Además, el fracaso de los ensayos clínicos realizados hasta la fecha podría ser debido a que se centraron en reducir la síntesis de A $\beta$ , la fracción soluble o la fracción insoluble, ignorando la posible relación que pudiera existir entre los diferentes elementos implicados (Rosenblum, 2014).

Disponer de biomarcadores sensibles y específicos de las fases más tempranas de la EA permitiría, por una parte, identificar el grado y distribución regional de las disfunciones sinápticas que preceden al deterioro de la memoria y, por otra, aprovechar la plasticidad del resto del cerebro para diseñar intervenciones terapéuticas. En este contexto, las oscilaciones EEG poseen un potencial extraordinario, dado su bajo coste, carácter no invasivo y amplia disponibilidad en hospitales y centros de investigación. Por otra parte, los registros EEG reflejan de manera directa y con una excelente resolución temporal, a diferencia del PET o la

RMf, la actividad postsináptica de grandes poblaciones de neuronas piramidales de la corteza cerebral. No solo constituye una excelente aproximación a la hora de estudiar los correlatos neurales de los diferentes procesos que subyacen a la memoria (Başar & Düzgün, 2016; Hanslmayr *et al.*, 2016; Igarashi, 2015; Ketz *et al.*, 2015; Wilsch & Obleser, 2016), sino que también pueden ser una herramienta útil para mejorar la memoria en programas de rehabilitación cognitiva (Reis *et al.*, 2016).

Estudios previos han mostrado que existe una relación entre el genotipo *APOE4* y el deterioro de la memoria en las fases prodrómicas y clínicas de la enfermedad (Consentino *et al.*, 2008; Whitehair *et al.*, 2010). Además, experimentos realizados en nuestro laboratorio apuntan a que el deterioro de la memoria asociativa en pacientes con DCLa portadores del *APOE4* podría deberse en parte a la incapacidad de estos pacientes para beneficiarse del contexto semántico durante la codificación, siendo este déficit independiente del grado de atrofia de la corteza entorrinal y/o del hipocampo (Atienza *et al.*, 2011a). Sin embargo, estos experimentos no han determinado si el daño estructural y/o funcional de otras regiones de la corteza podría estar promoviendo la incapacidad de estos pacientes para beneficiarse del contexto semántico. **Por ello, el primer objetivo fue identificar los correlatos cerebrales estructurales y funcionales del deterioro de la memoria que muestran los pacientes con DCLa en función de que portaran o no el genotipo *APOE4*.** Para abordar este objetivo, se seleccionó un grupo de mayores sanos y otro de pacientes con DCLa portadores y no portadores del genotipo *APOE4*, en los que se cuantificó el espesor de la corteza (con una resolución submilimétrica) y el volumen del hipocampo y la amígdala (con una resolución milimétrica), dos regiones del lóbulo temporal medial esenciales para la memoria que muestran un grado similar de atrofia en la EA (Horínek *et al.*, 2007; Klein-Koerkamp *et al.*, 2014). Adicionalmente, y con el objetivo de identificar alteraciones en los circuitos funcionales implicados en la memoria, se estimaron los generadores corticales de las oscilaciones EEG durante la codificación y posterior recuperación de memorias asociativas en condiciones de congruencia e incongruencia semántica.

Diferentes trabajos han explorado los cambios en el EEG/MEG basal asociados a la fase prodrómica de la EA (e.g., Babiloni *et al.*, 2006b; 2011; Cantero *et al.*, 2009a, 2009b; Canuet *et al.*, 2015; Cuesta *et al.*, 2015a, 2015b; Garcés *et al.*, 2013; Luckhaus *et al.*, 2008), así como su papel predictor en la evolución de la enfermedad (Babiloni *et al.*, 2011, 2014; Buscema *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2000; Jelic *et al.*, 2000; López *et al.*, 2014, 2016; Luckhaus *et al.*, 2008; Moretti *et al.*, 2011; Poil *et al.*, 2013). Sin embargo, son escasos los trabajos que han investigado los correlatos EEG de la memoria episódica durante la fase prodrómica de la EA, y la mayoría de los que lo hicieron basaron su aproximación analítica en los potenciales asociados a eventos más que en las oscilaciones corticales (Hopstädter *et al.*, 2013; Olichney *et al.*, 2008; Wolk *et al.*, 2013). Esta última aproximación permitiría, por una parte, identificar la circuitería funcional cortical afectada en pacientes con DCLa y, por otra, evaluar la capacidad de estos pacientes para predecir la conversión de DCL a EA. **Por lo tanto, el segundo objetivo de este trabajo fue investigar si las oscilaciones EEG asociadas a la memoria asociativa en pacientes con DCLa predicen la conversión a EA y si esta predicción mejora cuando se combina con otros marcadores de RM cerebral basados en la pérdida de integridad de la sustancia gris.**

## **2.2. Hipótesis relacionadas con el efecto del genotipo *APOE4* sobre los correlatos EEG de la memoria episódica en el DCLa**

- (i) Las técnicas de neuroimagen (e.g., RM, RMf, PET) son capaces de distinguir a los portadores de los no portadores del genotipo *APOE4* en función del grado de deterioro cognitivo (controles, DCLa y EA) además de predecir la evolución de dicho deterioro (para una revisión ver Bookheimer & Burggren, 2009). Se desconoce, sin embargo, si estas diferencias podrían también evidenciarse en las oscilaciones EEG asociadas a una tarea de memoria episódica en pacientes con DCLa. Estudios previos sugieren que los procesos de codificación y recuperación de la memoria están afectados en el DCL (Belleville *et al.*, 2008), por lo que la presencia del genotipo *APOE4* en pacientes con DCL debería suponer

una alteración de las oscilaciones EEG tanto durante la codificación como la posterior recuperación.

Recientemente se ha propuesto que la codificación y recuperación de la memoria episódica depende fundamentalmente de un sistema hipocampal encargado de integrar información y de un sistema neocortical dedicado a representar el contenido de dicha información (Hanslmayr *et al.*, 2016). Aunque ambos sistemas son complementarios, sus mecanismos actuarían en diferentes rangos de frecuencia. De hecho, el modelo postula que las representaciones neocorticales de la memoria estarían indexadas por una reducción de la potencia espectral en los rangos de alfa y beta. Para que el código neural generado adquiera sentido debe ser interpretado por el hipocampo, para lo cual deberá acoplar su respuesta neuronal con la fase de theta. Como las mismas neuronas neocorticales pueden responder a diferentes estímulos, diferentes representaciones de memoria podrían acabar solapándose. El hecho de que este sistema permita un alto rango de solapamiento lo hace muy vulnerable al olvido. Por el contrario, el hipocampo, mediante el acoplamiento de la amplitud de gamma con la fase de theta, permitiría un escaso grado de solapamiento entre las nuevas memorias y las adquiridas en el pasado, lo que lo convierten en un mecanismo especialmente eficiente para la formación de la memoria.

A pesar de que con la técnica del EEG no es posible registrar directamente oscilaciones theta procedentes del hipocampo, estudios previos han demostrado que los generadores de theta en humanos no se limitan al hipocampo sino que se extienden a diferentes regiones de la neocorteza (Florez *et al.*, 2015; Canolty *et al.*, 2006; Cantero *et al.*, 2003). Estas oscilaciones theta corticales también guardan una estrecha relación con los procesos de memoria (Hsieh & Ranganath, 2014). De hecho, diferentes trabajos han mostrado que durante la codificación (Atienza *et al.*, 2011b; Mölle *et al.*, 2002; Osipova *et al.*, 2006; Sederberg *et al.*, 2003, 2006; Summerfield & Mangels, 2005, 2006) y posterior recuperación de la memoria episódica (Gruber *et al.*, 2008; Pastötter & Bäuml, 2014) se producen cambios de potencia de theta en diferentes regiones corticales que correlacionan

con los niveles de ejecución en la tarea de memoria. Este hecho también se ha observado en personas mayores cognitivamente intactas (Crespo-García *et al.*, 2012). Dado que los incrementos de potencia de theta en determinadas regiones corticales a menudo se acompañan de decrementos de potencia en el rango de alfa/beta en otras regiones de la corteza (Hanslmayr *et al.*, 2009, 2011; Klimesch *et al.*, 1996, 1997), subrayando el papel de diferentes circuitos corticales en diferentes procesos de memoria, podría ocurrir que los efectos del genotipo *APOE4* fueran más evidentes en un rango de frecuencia que en otro. De esta forma, sería posible determinar qué procesos de memoria se ven más afectados por la presencia de este genotipo en los pacientes con DCLa.

- (ii) Los pacientes con DCLa portadores del genotipo *APOE4* no solo presentan más dificultades para codificar, consolidar y recuperar eventos episódicos (Albert *et al.*, 2007; Farlow *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 1998), sino que además son incapaces de beneficiarse de la información semántica presentada durante la codificación (Atienza *et al.*, 2011a). Dado que hay evidencias de que la congruencia semántica durante la codificación facilita la integración de la nueva información con esquemas de conocimiento previo (Packard *et al.*, 2017), esperaríamos que los efectos del *APOE4* sobre los correlatos EEG del beneficio de la congruencia semántica fueran especialmente notables durante la codificación. Además, estudios previos han mostrado que dichos correlatos se evidencian en el rango de theta, tanto en adultos jóvenes (Atienza *et al.*, 2011b) como en personas mayores cognitivamente intactas (Crespo-García *et al.*, 2012). Por consiguiente, se espera que los efectos del genotipo *APOE4* sobre las oscilaciones EEG sean especialmente evidentes en dicha banda de frecuencia, aunque no se descarta que puedan emerger en otras frecuencias.
- (iii) La literatura existente no es concluyente respecto a si el deterioro de la memoria que caracteriza a la EA está directamente causado por la patología subyacente (Bennett *et al.*, 2005) o si está parcialmente mediado por el genotipo *APOE4* (Martins *et al.*, 2006). Portar el genotipo *APOE4* en pacientes con EA podría potenciar la interacción entre factores de

riesgo relacionados con el estilo de vida (Reuter-Lorenz *et al.*, 2014; Stern, 2012) y los cambios cerebrales propios del envejecimiento (Liu *et al.*, 2013; Reinvang *et al.*, 2013). Trabajos previos han postulado que las personas mayores portadoras del genotipo APOE4 mantendrán su memoria intacta mientras sean capaces de reclutar mecanismos neurales que compensen los efectos perniciosos de dicho genotipo (Tuminello & Han, 2011). Desde esta perspectiva, el deterioro de la memoria que sufren los pacientes con DCLa portadores del APOE4 podría deberse parcialmente a las alteraciones en dichos mecanismos de compensación neural. De confirmarse esta hipótesis, solo los DCLa que no porten dicho genotipo deberían mostrar cambios en las oscilaciones EEG en regiones corticales importantes para la memoria con el objetivo de compensar los daños cerebrales estructurales y funcionales propios de las fases prodrómicas de la EA. Si estos cambios oscilatorios fueran realmente compensatorios, además de correlacionar con una mejora del reconocimiento en la tarea de memoria, deberían estar condicionados por el grado de afectación del lóbulo temporal, tanto a nivel estructural como funcional (Dennis & Cabeza, 2013).

### **2.3. Hipótesis relacionadas con la capacidad de los correlatos EEG de la memoria para predecir la conversión de DCLa a EA**

La sintomatología que caracteriza al síndrome de DCL no es exclusiva de la EA (Petersen *et al.*, 1999) lo que dificulta enormemente distinguir los casos que progresarán a EA de aquellos que permanecerán estables o progresarán a otro tipo de demencia (Backman *et al.*, 2004). De hecho, un 30% de los casos con DCL no evolucionan a EA aún presentando un deterioro aislado de la memoria (Dubois *et al.*, 2007). Por otra parte, estudios previos sugieren que tanto las lesiones de la EA (Klyubin *et al.*, 2012) como las alteraciones de la mielina podrían contribuir a las disfunciones sinápticas desde fases muy tempranas de la enfermedad (Dean *et al.*, 2017). Ambos fenómenos podrían explicar los cambios en las oscilaciones EEG (Pajevic *et al.*, 2014).



Como se avanzó en la introducción, diferentes trabajos han confirmado la capacidad de las oscilaciones EEG/MEG para predecir la evolución a la EA desde el estadio de DCL (Babiloni *et al.*, 2011, 2014; Buscema *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2000; Jelic *et al.*, 2000; López *et al.*, 2014, 2016; Luckhaus *et al.*, 2008; Moretti *et al.*, 2011; Poil *et al.*, 2013), aunque en todos los casos fueron registradas en estado de reposo cerebral. Por otra parte, hay evidencias de que determinados componentes de potenciales evocados modulados por la memoria de trabajo, tales como el P200, N200 y P300, también son capaces de discriminar entre el envejecimiento normal y las fases prodrómicas de la EA (Bennys *et al.*, 2011; Cespón *et al.*, 2015; Chapman *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2015; Missonier *et al.*, 2007). A pesar de su innegable interés, estos estudios se han centrado en componentes de la memoria más asociados a patologías que directa o indirectamente afectan al lóbulo frontal, ignorando el componente asociativo de la memoria, más estrechamente relacionado con regiones del lóbulo temporal medial que muestran una mayor afectación en la EA (Perri *et al.*, 2015). Hasta donde llega nuestro conocimiento, el presente estudio es el primero que incluye entre sus objetivos evaluar si las oscilaciones EEG asociadas al componente asociativo de la memoria son capaces de mejorar la capacidad predictiva de marcadores de RM más convencionales, como el volumen del hipocampo y/o de la amígdala, y si la combinación de ambos marcadores (*i.e.*, RM estructural y oscilaciones EEG) puede contribuir a mejorar de forma significativa dicha predicción.

Nuestra hipótesis de partida es que las fuentes generadoras de las oscilaciones alfa en regiones posteriores de la corteza podrían ser un buen predictor de la progresión de la EA en pacientes con DCLa. Esta hipótesis descansa en estudios realizados con diferentes aproximaciones experimentales. En primer lugar, resultados derivados de modelos computacionales han mostrado que la reducción sináptica cortico-cortical en pacientes con EA afecta a las oscilaciones talámicas y corticales en el rango de alfa (Abuhassan *et al.*, 2012, 2014), un fenómeno que se extiende a pacientes con DCLa (Pons *et al.*, 2010). En segundo lugar, el déficit de memoria que caracteriza al DCLa se ha relacionado con anomalías en la potencia y sincronía de fase de los generadores corticales posteriores del ritmo alfa, al menos

en condiciones de reposo cerebral (e.g., Babiloni *et al.*, 2006b, 2011; Cantero *et al.*, 2009a, 2009b; Canuet *et al.*, 2015; Luckhaus *et al.*, 2008). Y por último, existen evidencias de que las alteraciones en el rango de alfa correlacionan con la atrofia cortical y subcortical en la EA (Babiloni *et al.*, 2009b, 2013; González-Escamilla *et al.*, 2016, López *et al.*, 2014), muy especialmente del hipocampo (Babiloni *et al.*, 2009b) y del complejo hipocampo-amígdala (Moretti *et al.*, 2009). Dado que la combinación de diferentes biomarcadores del deterioro cognitivo ha mostrado mejorar sensiblemente la predicción de la conversión de DCLa a EA (Eckerström *et al.*, 2013; Furney *et al.*, 2011; López *et al.*, 2016; Shaffer *et al.*, 2013), cabría esperar en nuestro caso que la combinación de las oscilaciones alfa en respuesta a una tarea de memoria asociativa con la integridad del lóbulo temporal medial mejoren igualmente esta predicción.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

---



### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Sujetos

En el presente estudio participaron sesenta personas mayores, 26 controles (12 mujeres,  $66,7 \pm 4,9$  años) y 34 DCLa (22 mujeres,  $69 \pm 6,7$  años). La muestra experimental fue reclutada en el Laboratorio de Neurociencia Funcional (Universidad Pablo de Olavide, Sevilla) y en la Unidad de Demencias del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla. La participación en el estudio fue completamente voluntaria, existiendo la posibilidad de abandonar los experimentos si el participante o sus familiares lo consideraban oportuno. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado antes de comenzar el estudio. Los protocolos experimentales empleados en este trabajo 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. Todos los procedimientos empleados respetaron los principios de la Declaración de Helsinki (1975, revisados en 2000).

Todos los participantes se sometieron a pruebas de laboratorio (hemograma, vitamina B12/folato y función tiroidea), a una exploración neurológica, y a un estudio de RM de cráneo que incluyó secuencias ponderadas en T1, T2 y FLAIR. Estas pruebas fueron evaluadas por el mismo neurólogo, en controles y pacientes, tanto en el primer año (línea base) como en el periodo de seguimiento, el cual solo tuvo lugar en los pacientes con DCLa.

Los criterios de inclusión en el estudio para controles y DCLa fueron los siguientes: i) tener entre 65 y 80 años, ii) hablar español como primera lengua, iii) presentar una visión normal o corregida, iv) mostrar un nivel de independencia normal desde un punto de vista clínico y de acuerdo con las escalas de Actividades Básicas e Instrumentales de la Vida Diaria validadas en población española (Böhm *et al.*, 1998), v) no cumplir los criterios diagnósticos de demencia establecidos en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, 4ª versión

(DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994), vi) ausencia de lesiones anatómicas en la RM (infartos cerebrales extensos, tumor cerebral, esclerosis del hipocampo y/o malformaciones vasculares), vii) ausencia de isquemias relevantes en la sustancia blanca periventricular y/o profunda en la RM (puntuaciones  $\geq 2$ ) según la Escala de Cambios en la Sustancia Blanca Asociados a la Edad (Fazekas *et al.*, 1987), viii) ausencia de sintomatología depresiva de acuerdo con la Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage validada en población española (utilizándose como criterio de exclusión puntuaciones  $\geq 5$ ) (Martínez de la Iglesia *et al.*, 2002), ix) no presentar 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) o de otra índole (renal, hepática, pulmonar y/o endocrina), y x) no estar en tratamiento con medicación que pudiera afectar de forma explícita a la función cognitiva (*e.g.*, inhibidores de la acetilcolinesterasa, benzodiazepinas, antidepresivos tricíclicos, etc.).

En los controles, se descartó la presencia de deterioro cognitivo subjetivo y/o objetivo mediante evaluación neuropsicológica, se confirmó que tenían conservadas las actividades de la vida diaria con la misma escala empleada en los pacientes con DCLa, y se requirió que todos ellos obtuvieran una puntuación global de 0 (ausencia de demencia) en la Escala de Demencia Clínica (*Clinical Dementia Rating*, CDR) (Hughes *et al.*, 1982).

El diagnóstico de DCLa se estableció siguiendo los criterios propuestos por Petersen *et al.* (1999): i) quejas subjetivas de memoria preferiblemente corroboradas por el acompañante, cuidador o familiar más cercano, ii) deterioro objetivo de la memoria confirmado mediante pruebas neuropsicológicas (1,5 desviaciones típicas por debajo del rendimiento cognitivo medio en personas mayores normales de la misma edad y nivel educativo), para lo cual se emplearon las pruebas de memoria inmediata y diferida de los subtests de Memoria Lógica de la Escala de Memoria de Wechsler (TEA, 1999), y iii) una puntuación global de 0,5 (demencia cuestionable) en el CDR. La evaluación cuantitativa de la RM, concretamente del volumen del hipocampo y de la amígdala y su relación con la memoria, nos permitió confirmar que la

condición de estos sujetos se correspondía con la de DCL debido a EA con un nivel intermedio de certeza (Albert *et al.*, 2011).

El diagnóstico de EA se basó en los criterios establecidos por el DSM-IV: i) alteración de la capacidad para adquirir y recuperar nuevas memorias, ii) presencia de una o más de las siguientes alteraciones: afasia, apraxia, agnosia y/o deterioro de la función ejecutiva, iii) las alteraciones (i) y (ii) interfieren de forma significativa con la actividad social y/o laboral del paciente, además de mostrar una evolución gradual y un deterioro cognitivo progresivo, iv) las alteraciones (i) y (ii) no se asocian con un síndrome confusional agudo, v) el cuadro clínico no es atribuible a una alteración psiquiátrica (*e.g.*, depresión mayor o esquizofrenia), y vi) el paciente muestra una puntuación global de 1 (demencia leve) en la CDR (Hughes *et al.*, 1982).

Transcurridos 2 años desde la línea base, 16 de los 34 pacientes diagnosticados con DCLa (47%) reunieron los criterios de EA, mientras que los 18 restantes (53%) permanecieron estables.

### **3.2. 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 extracción de muestras de sangre. 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<sup>®</sup>, Thermo Fisher Scientific) y su integridad se determinó mediante electroforesis (Mupid-One<sup>®</sup>) con geles de agarosa. El ADN resultante se almacenó en viales de 1,5 ml y se congeló a -80°C.

Los diferentes polimorfismos del gen *APOE* se obtuvieron mediante PCR (*Step-One Plus*, *Applied Biosystem*) con sondas TaqMan<sup>®</sup> (*Applied Biosystem*) específicas para cada

polimorfismo de nucleótido simple (*Single Nucleotide Polimorphism*, SNP) de interés (rs429358: sonda TaqMan C\_3084793\_20; rs7412: sonda TaqMan C\_904973\_10). En cada reacción se utilizaron 50 ng de ADN genómico en un volumen total de 10 µl en placas de 96 pocillos. El termociclado se programó de la siguiente manera: 95°C durante 5 minutos, seguido por 38 ciclos en los que se alternaron 95°C durante 10 segundos con 60°C durante 1 minuto. Todas las reacciones fueron amplificadas por duplicado siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Se repitieron varias muestras de manera aleatoria para confirmar el genotipado y los resultados fueron concordantes en un 100% de los casos.

Cabe resaltar que la presencia/ausencia del alelo ε4 no se empleó como criterio de inclusión/exclusión en ninguno de los grupos. La influencia del genotipo *APOE4* fue evaluada exclusivamente en los pacientes con DCLa dado que ninguno de los controles portaron dicho genotipo.

### 3.3. Estímulos

El paradigma experimental utilizado para evaluar la memoria asociativa y sus correlatos cerebrales estructurales y funcionales empleó como estímulos caras de personas no famosas y de personajes famosos españoles (*i.e.*, actores, políticos, músicos y personajes de la televisión). Los personajes famosos se seleccionaron a partir de los resultados derivados de un estudio piloto realizado en 20 personas mayores cognitivamente intactas. En este estudio se presentaron 288 nombres de personas famosas junto a tres claves biográficas que incluían la profesión así como información adicional relacionada con la profesión (*e.g.*, el título de una canción, el nombre de un programa de televisión, o la pertenencia 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. Además del nombre, se seleccionaron tres claves biográficas correspondientes a 96 personas famosas (50% mujeres) siempre y cuando hubieran sido



reconocidas por al menos el 75% de los participantes. El mismo procedimiento se siguió con 15 personajes adicionales que fueron incluidos en la fase de práctica.

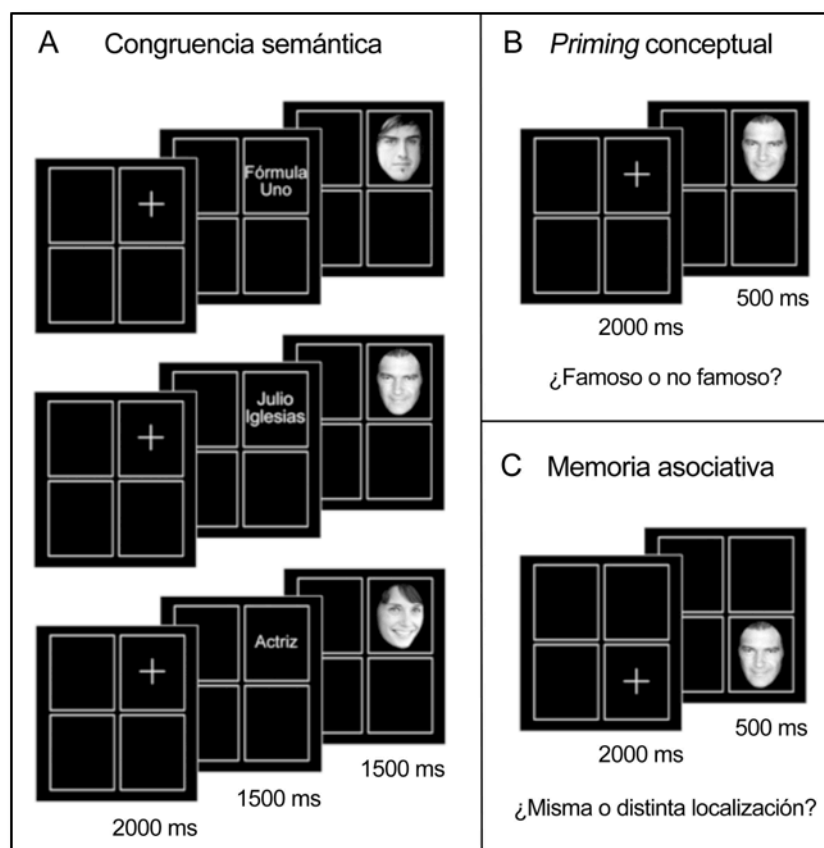
De las 96 personas famosas reconocidas por el 75% de la muestra, 32 se asignaron a la condición de congruencia semántica, 32 a la condición de incongruencia semántica, y de las 32 restantes se seleccionaron sus claves para presentarlas junto a las caras de personas no famosas. Además, las imágenes se 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. Con las caras utilizadas en la fase de práctica se procedió de la misma forma.

A través de búsquedas en internet se seleccionaron 64 caras correspondientes a las personas famosas derivadas del estudio piloto y otras 32 de personas no famosas (además de las 15 caras empleadas en la fase de práctica). En el proceso de selección se evitó que las fotos contuvieran accesorios tales como gafas de sol, sombreros o pañuelos. Las caras de famosos y no famosos fueron igualadas en sexo, edad (aproximada) y expresión facial (neutra o positiva). Para minimizar la influencia de elementos perceptivos adicionales al propio rostro, como el peinado o los pendientes, 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 fueron transformadas a la misma escala de grises y mismo nivel de luminancia mediante el programa Adobe Photoshop (v.7.0.1).

Las caras fueron presentadas sobre un fondo negro, en el centro de uno de los cuatro rectángulos (5,9 cm de ancho por 7,3 cm de alto) en los que se dividió la pantalla, dos a cada lado del eje vertical y otros dos por arriba y por debajo del eje horizontal. Los participantes se sentaron en un sillón, a 1 m de distancia de un monitor de 17 pulgadas, de tal manera que el nasion estuvo centrado respecto al centro geométrico de dicho monitor. De esta forma, el ángulo visual de la cara dentro del rectángulo fue aproximadamente de 2,5° x 3,9° (anchura x altura).

### 3.4. Paradigma experimental

Cada participante realizó tres tareas en dos sesiones consecutivas. 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 facilitación (*priming*) conceptual y otra de memoria asociativa basada en el reconocimiento visuoespacial. La **Figura 7** muestra el curso temporal de un ensayo correspondiente a cada una de las tareas.



**Figura 7. Representación esquemática del paradigma experimental.** **A)** Tarea de congruencia semántica en la que el sujeto debe indicar si la clave es congruente con la cara. Cada ensayo se corresponde con una condición experimental: clave semánticamente congruente con cara de famoso (Fórmula Uno–Fernando Alonso), clave semánticamente incongruente con cara de famoso (Julio Iglesias–Antonio Banderas), y clave semánticamente incongruente con cara de persona no famosa (Actriz–Cara desconocida). **B)** Tarea de *priming* conceptual en la que el sujeto debe indicar si la cara pertenece a una persona famosa o no famosa. **C)** Tarea de memoria asociativa en la que el sujeto debe indicar si la cara se presenta en la misma localización espacial que en las fases anteriores o no.

Cada tarea se dividió en 6 bloques de 48 ensayos. La tarea de congruencia semántica duró aproximadamente 60 minutos mientras que las de memoria duraron 30 minutos cada una, con un descanso de 15 minutos entre una tarea y otra, y con un descanso de 2 minutos entre bloques. Por lo tanto, la tarea de memoria asociativa tuvo lugar una hora después de que hubiese finalizado la fase de estudio. Las instrucciones se repitieron al comienzo de cada bloque, con el objetivo de garantizar que todos los sujetos, especialmente aquellos con DCLa, no olvidaran cómo tenían que responder. La presentación de los estímulos y el registro de las respuestas comportamentales se realizó con el programa Presentation (Neurobehavioral Systems, Inc., Albany, CA).

En la fase de estudio se presentaron caras de personas famosas y no famosas en uno de los 4 cuadrantes en los que se dividió la pantalla. Todas las caras fueron precedidas por una clave biográfica en la misma localización espacial. En el caso de las caras no famosas, la información proporcionada por la clave siempre fue semánticamente incongruente. Sin embargo, en el caso de las caras de personas famosas, la clave fue semánticamente congruente con la cara en la mitad de las ocasiones e incongruente en la otra mitad. Los sujetos fueron instruidos para que indicaran si la clave se correspondía o no con la cara. Para ello se utilizó una caja de respuestas con cinco botones dispuestos en forma de cruz (Cedrus<sup>®</sup>, modelo RB-530; Cedrus Corporation, San Pedro, CA). Los sujetos debían presionar el botón izquierdo en caso afirmativo y el derecho en caso negativo, los cuales estaban señalizados en color amarillo y rojo, respectivamente. Esta información se repetía al inicio de cada bloque de forma verbal y táctil (el experimentador tocaba la mano izquierda del participante para indicarle que con esa mano debía responder sí y la derecha para responder no). Los participantes no fueron informados sobre las pruebas de memoria, por lo que cualquier relación establecida entre la cara y la localización espacial fue totalmente incidental.

Aunque cada cara se presentó en la misma localización espacial en 3 bloques alternantes, en cada ocasión fue precedida por una clave distinta correspondiente al mismo personaje y a la misma condición experimental. El ensayo comenzaba con una cruz de color blanco en el centro

de uno de los cuatro cuadrantes durante 2000 ms, seguida por la presentación de la clave durante 1500 ms y por la cara durante otros 1500 ms (**Figura 7A**). Los participantes disponían de 5000 ms para responder si existía una relación entre la clave y la cara. No se proporcionó ninguna instrucción específica en el caso que los sujetos no supieran qué responder.

Cada vez que el cerebro procesa una cara conocida o una clave biográfica se accede a información conceptual. Si la condición es de congruencia semántica, una mayor cantidad de información semántica acerca de una misma identidad se relaciona con la misma localización espacial. Por lo tanto, cabría esperar que cuando el sujeto fuera expuesto de nuevo a las caras codificadas en condición de congruencia semántica, se viera facilitado el acceso a la información semántica así como el reconocimiento de los elementos perceptivos y contextuales relacionados con dicha cara (Voss *et al.*, 2008; Voss & Paller, 2006). Dado que evidencias previas sugieren que el acceso a la información semántica podría estar dañado en las fases prodrómicas de la EA (Brambati *et al.*, 2012; Dudas *et al.*, 2005; Mulatti *et al.*, 2014; Willers *et al.*, 2008), se decidió evaluar el acceso automático a la información semántica mediante una tarea de *priming* conceptual.

En la tarea de *priming* conceptual se presentaron las mismas caras en la misma localización espacial que en la fase de estudio durante 500 ms. Pero en esta ocasión se omitieron las claves biográficas (**Figura 7B**). Los sujetos debían responder, de la manera más precisa y rápida posible, si la cara pertenecía a una persona famosa o no famosa (botón izquierdo en caso afirmativo y derecho en caso negativo). Las respuestas más rápidas de 300 ms y más lentas de 2000 ms fueron excluidas de los análisis. Si los participantes mostraban *priming* semántico, es decir respuestas más rápidas y/o un mayor índice de precisión para las caras famosas semánticamente congruentes que para las incongruentes, se interpretó como un indicio de que habían accedido automáticamente a la información semántica, requisito indispensable para beneficiarse de la congruencia semántica durante la tarea de memoria espacial.

Tras finalizar esta tarea, todos los participantes habían visto cada cara en la misma localización un total de 6 veces (tres veces en cada tarea). Durante la prueba de memoria asociativa, la mitad de las caras se presentaron en la misma localización espacial y la otra mitad en una localización distinta durante 500 ms (**Figura 7C**). Los participantes debían indicar si la cara había aparecido o no en esa misma localización en las pruebas anteriores pulsando uno de los dos botones de la caja de respuestas (izquierdo en caso afirmativo y derecho en caso negativo). Estudios previos utilizando esta misma tarea (Atienza *et al.*, 2011b) o tareas similares (Alberca-Reina *et al.*, 2014; Staresina *et al.*, 2009) han mostrado que la memoria episódica se beneficia de la congruencia semántica tanto en adultos jóvenes como en personas mayores cognitivamente intactas (Crespo-García *et al.*, 2012) pero no en pacientes con DCLa (Atienza *et al.*, 2011a). En el presente estudio se evaluó específicamente si este efecto, que debería traducirse en un mejor reconocimiento para las caras famosas congruentes, está modulado por el genotipo *APOE4* y/o por la evolución a EA transcurridos dos años.

### 3.5. Análisis comportamental

La precisión de la ejecución en las tareas de memoria se evaluó mediante el índice de discriminación *d prima* ( $d'$ ) derivado de la teoría de detección de señales (Snodgrass & Corwin, 1988):

$$d' = z\text{Aciertos} - z\text{Falsas alarmas}$$

Para ello se calculó el porcentaje de aciertos (responder afirmativamente que una cara en la prueba de memoria ha aparecido en la misma localización que en la fase de estudio, siendo esto cierto) y el porcentaje de falsas alarmas (responder afirmativamente que una cara en la prueba de memoria ha aparecido en la misma localización que en la fase de estudio, siendo esto falso).

El índice  $d'$  se calculó separadamente para cada condición de congruencia. A partir de estos se obtuvieron dos índices adicionales, uno referido al reconocimiento global ( $d'$  asociativa), sin considerar la condición de congruencia; y otro que refleja la ganancia debida al contexto semántico en el que se presentaron las caras ( $d'$  semántica). El primero se obtuvo calculando la media entre la  $d'$  congruente e incongruente y el segundo a partir de la substracción de estas dos condiciones.

Además, se calcularon los tiempos de reacción (TR) para las respuestas correctas (aciertos y rechazos correctos). Esto se realizó para la condición de congruencia e incongruencia por separado, así como para el componente asociativo y semántico.

Los análisis estadísticos de las respuestas comportamentales se realizaron con el programa SPSS v.21 (SPSS Inc., Chicago, IL). En la tarea de *priming* conceptual y de reconocimiento visuoespacial se evaluó el efecto de la congruencia semántica (congruencia e incongruencia), del diagnóstico (controles y DCLa), del genotipo *APOE* (DCLa  $\epsilon 4^-$  y DCLa  $\epsilon 4^+$ ) y de la conversión a EA (DCLa-e y DCLa-c) mediante análisis mixtos de la varianza (ANOVAs) y de la covarianza (ANCOVAs), incluyendo la edad como covariable. La homogeneidad de varianzas se evaluó con la prueba de Levene y la de la matriz de varianza-covarianza con la prueba de Box. Se utilizó la  $W$  de Mauchly para evaluar si el modelo estadístico cumplía la asunción de esfericidad. Los efectos de interacción se evaluaron mediante el estadístico  $t$  de Student.

### **3.6. Oscilaciones EEG**

#### **3.6.1. Registro de la señal EEG**

El EEG se registró en la fase de estudio y en la fase de memoria visuoespacial en todos los participantes. El protocolo incluyó 59 electrodos de EEG (Fp1, Fp2, AF7, AF3, AFz, AF4, AF8, F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8, T7, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, T8, TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz,

P2, P4, P6, P8, PO7, PO3, POz, PO4, PO8, O1 y O2), 4 electrodos de electrooculografía (EOG) para registrar movimientos oculares horizontales y verticales, y 2 electrodos de electromiografía (EMG) colocados sobre los músculos submentonianos para registrar el tono muscular. Todos los electrodos se referenciaron al promedio de la actividad registrada en ambos mastoides (A1 y A2). La colocación de los electrodos EEG sobre el cuero cabelludo se realizó siguiendo las coordenadas del Sistema Internacional 10-10 (Jasper, 1958).

Se utilizaron electrodos de disco de 10 mm de diámetro chapados en oro y con una longitud de cable de 152 cm (Grass, Inc., referencia FS-E5GH-60). Antes de colocar cada electrodo, se frotó la zona de interés con un bastoncillo untado con una crema que permite mejorar la conductividad (Nuprep Skin Prep Gel™, Weaver). Posteriormente, se rellenó la copa de cada electrodo con una pasta electrolítica conductora (Ten20™, Weaver) para facilitar la conductancia eléctrica entre la piel y el electrodo. Finalmente, los electrodos de EEG se fijaron al cuero cabelludo con colodión (solución al 4%, Panreac, referencia 141278.0314), mientras que los electrodos de EOG y EMG se adhirieron a la piel de la cara con cinta quirúrgica extra-adhesiva (Fixomull®, BSN medical GmbH). Para acelerar el proceso de fijación y secado del colodión se aplicó aire comprimido a cada electrodo colocado sobre el cuero cabelludo. Los valores de impedancia de todos los electrodos se mantuvieron por debajo de 5 kΩ. Las señales EEG fueron amplificadas (BrainAmp MR, Brain Vision®), filtradas (filtro de paso de banda 0,1-100 Hz), digitalizadas (250 Hz, resolución 32-bits) y almacenadas para su análisis posterior.

### **3.6.2. Pre-procesamiento de la señal EEG**

La **Figura 8** ilustra de manera esquemática el protocolo de análisis de las señales EEG empleado en el presente estudio. En primer lugar, se corrigieron los artefactos oculares y musculares mediante análisis de componentes independientes (*Independent Component Analysis*, ICA) con el algoritmo Infomax (Bell & Sejnowski, 1995) implementado en el programa BrainVision Analyzer v.1.05 (Brain Products GmbH, Munich, Germany). Cada tipo de artefacto fue identificado a partir de sus distribuciones topográficas, espectro de potencia y dinámica

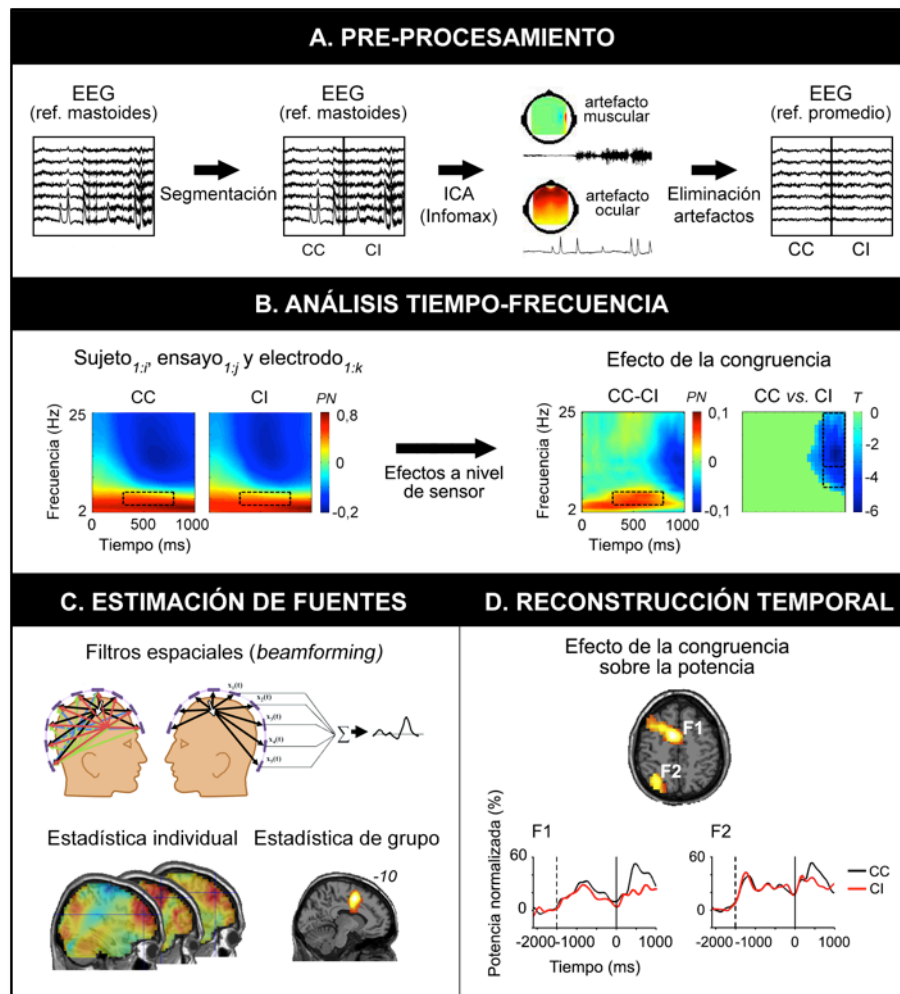
temporal, para luego sustraerlos de la señal EEG original. Los segmentos de EEG que mostraban artefactos después de la aplicación de ICA fueron eliminados manualmente. Por último, a fin de que la fase de las oscilaciones EEG no se viera afectada por la referencia original se aplicó una referencia promedio común (Schiff, 2005).

En el presente trabajo se analizaron las oscilaciones EEG registradas durante la fase de estudio y durante la segunda fase de memoria basada en una tarea de reconocimiento visuoespacial. En la fase de estudio, solo se analizaron las asociaciones recordadas en la fase de memoria en al menos dos de los ensayos (aciertos + rechazos correctos). Este matiz es importante, dado que la mayoría de los estudios previos que han evaluado los mecanismos cerebrales asociados a la codificación han empleado el paradigma de la memoria subsecuente (Paller & Wagner, 2002), que compara la actividad cerebral en los ensayos de la fase de estudio que fueron posteriormente recordados frente a los que fueron olvidados. Esta aproximación analítica no pudo emplearse en el presente estudio ya que los controles cometieron pocos errores en esta tarea, lo que impidió obtener una buena razón señal-ruido en los ensayos olvidados.

### **3.6.3. Análisis de la señal EEG en el dominio espectral, temporal y espacial**

Tras la corrección de artefactos, las señales EEG de cada sensor, ensayo, condición y sujeto se transformaron a los dominios tiempo-frecuencia aplicando la transformada wavelet implementada en el programa FieldTrip (Oostenveld *et al.*, 2001). En particular, las señales EEG fueron convolucionadas con una wavelet Morlet de seis ciclos (Percival & Walden, 1993), con un submuestreo de 0,25 Hz y una duración de ventana ajustada a cada frecuencia  $f$  ( $\Delta T = 5/f$ ), en un rango de frecuencias que osciló entre 2 y 25 Hz.





**Figura 8. Protocolo de análisis de las oscilaciones EEG.** **A)** Pre-procesamiento. Selección de segmentos EEG asociados a ensayos congruentes (CC) e incongruentes (CI) para corregir los artefactos extra-cerebrales mediante ICA. **B)** Análisis tiempo-frecuencia. Las señales de cada electrodo, ensayo y sujeto se transforman al dominio tiempo-frecuencia. Posteriormente, se identifican los instantes de tiempo y los componentes de frecuencia en los que el contraste estadístico alcanza su máximo valor a partir de una estadística multivariada. Los generadores EEG se estiman en las ventanas de tiempo-frecuencia resultantes de esa estadística (recuadros con líneas discontinuas), siempre y cuando dicho componente también muestre un cambio significativo con respecto a la línea base en cada grupo. **C)** Estimación de los generadores corticales de las oscilaciones EEG. Se aplican filtros espaciales (*beamforming*) para extraer el dipolo eléctrico (flecha blanca) de la actividad EEG en una localización cortical, eliminando la influencia de los dipolos restantes. La señal del sensor resulta de la contribución de múltiples generadores (líneas de colores). Tras aplicar *beamforming* se aísla la señal procedente de un solo generador (líneas negras). A partir de esta información, se obtienen los mapas de activación para cada ensayo. A continuación, se hace una estadística a nivel individual seguida de otra a nivel de grupo. A partir de los mapas estadísticos no paramétricos se identifican las coordenadas de los vóxeles que muestran el estadístico máximo. **D)** Reconstrucción temporal de la señal EEG procedente de los generadores corticales. Aplicando los filtros espaciales sobre las coordenadas de los vóxeles seleccionados en (C), se transforman al dominio del tiempo las señales de los generadores EEG corticales. A partir de esta información, se extraen las series temporales de potencia espectral normalizada (PN) sobre las que se realiza el mismo contraste estadístico que se aplicó a nivel de generadores corticales.

Para evitar el efecto de borde introducido por la transformada wavelet, las ventanas de análisis se extendieron 2 s antes y después del periodo de interés. El periodo de interés empezó 2100 ms (fase de estudio) o 600 ms (fase de memoria) antes de presentar las claves biográficas y finalizó 1000 ms tras la aparición de la cara en ambos casos.

Para obtener la representación tiempo-frecuencia de los incrementos y/o decrementos de potencia espectral con respecto a la línea base, los valores de potencia ( $P$ ) para cada frecuencia individual ( $f$ ) fueron normalizados en todos los puntos temporales ( $t$ ) de la siguiente manera:

$$[P(tf) - P(f) \text{ línea base}] / P(f) \text{ línea base}$$

donde  $P(f)$  línea base representa la media de la potencia EEG para un componente de frecuencia particular dentro del periodo denominado línea base. El periodo de línea base se extendió desde -2100 a -1600 ms en la fase de estudio y desde -600 a -100 ms en la fase de memoria. Se evitó incluir en este periodo los 100 ms que precedieron a la aparición del primer estímulo por los cambios que normalmente se producen en las oscilaciones EEG ante la expectativa que genera la aparición de un estímulo esperado (en este caso, la clave en la fase de estudio y la cara en la fase de memoria). Estos valores de potencia normalizados reflejan un decremento o incremento en la sincronización de las poblaciones neurales subyacentes que se conocen como *event-related desynchronization* o *event-related synchronization* (ERS/ERD), respectivamente (Pfurtscheller & Lopes da Silva, 1999). Estas medidas se obtienen a partir de una única señal y son por tanto medidas que hacen referencia a la sincronización (ERS) y desincronización (ERD) cortical a nivel local.

Previamente al análisis estadístico, se seleccionó un mismo número de ensayos para cada condición experimental (congruencia) en cada sujeto. De esta manera, evitamos que las diferencias entre condiciones se debieran a diferencias en la razón señal-ruido entre condiciones. A continuación, se promediaron las oscilaciones EEG transformadas al dominio tiempo-frecuencia para cada individuo y condición experimental. De esta forma, fue posible

analizar no solo la actividad oscilatoria que está en fase con el estímulo (cara), sino también aquella en la que las relaciones de fase con el estímulo muestran una mayor variabilidad entre ensayos.

Posteriormente, utilizamos una estadística basada en la regresión de mínimos cuadrados parciales (*Partial Least Squares*, PLS) para identificar aquellos electrodos y porciones del espectrograma que alcanzaron la significación estadística. Esta aproximación extrae una serie de variables no correlacionadas, denominadas variables latentes, que explican un porcentaje significativo de la estructura de covarianza entre los espacios multidimensionales definidos por las variables de interés y las variables dependientes (McIntosh *et al.*, 1996). Existen diferentes modalidades de PLS (McIntosh & Lobaugh, 2004), pero las dos empleadas en este estudio han sido el PLS tarea (*mean-centered task PLS*), que permite analizar los cambios en las oscilaciones EEG en función de la línea base, de la congruencia y/o del grupo (definido en base al diagnóstico, *APOE4* o la conversión a EA); y el PLS comportamental (*behavioral PLS*), que permite evaluar la relación existente entre las oscilaciones EEG y la ejecución en la tarea de memoria.

Los análisis de PLS se realizaron con la herramienta de Matlab PLScmd (<http://www.rotman-baycrest.on.ca/pls/source/>). Mediante un test de permutaciones se determinó si el efecto de cada variable latente era generalizable y significativamente diferente del azar. Más concretamente, los sujetos fueron reasignados al azar 10.000 veces sin reemplazamiento al otro posible grupo, mientras que para evaluar el efecto de la línea base y la congruencia se permutaron las condiciones de las dos variables en cada sujeto. En el caso de las correlaciones, fueron los índices de memoria asociativa y semántica los que se permutaron para todos los sujetos dentro de cada grupo. Por otra parte, para evaluar la estabilidad de las contribuciones máximas de los electrodos a las variables latentes se realizaron 2.000 estimaciones mediante el método de bootstrapping. Este método calcula repetidamente el test estadístico reasignando aleatoriamente sujetos a cada grupo. La finalidad última del *bootstrapping* es determinar aquellos segmentos de la señal EEG que alcanzan un efecto

significativo estable en la muestra de sujetos, de manera que solo se consideran relevantes aquellos resultados dos veces superiores al error estándar del bootstrapping ( $p < 0,05$ ).

Para cada contraste en el que el PLS arrojó resultados significativos, se promediaron las señales de los electrodos que alcanzaron la significación estadística. El contraste volvió a realizarse sobre la señal promediada en el rango de tiempo-frecuencia que nos indicó el PLS. Para corregir los falsos positivos que se derivan de las múltiples comparaciones (a través de las muestras temporales y componentes de frecuencia) se aplicó el método de asignación aleatoria y múltiples comparaciones implementado en el programa FieldTrip (Maris, 2004; Nichols & Holmes, 2002).

En general, este procedimiento tiene un doble objetivo. Por un lado, identificar el componente de frecuencia asociado al momento temporal donde se localiza el estadístico máximo corregido por múltiples comparaciones, a partir del cual se extraerá la información de la fase necesaria para la estimación de los generadores corticales del EEG. Y por otro, determinar, para cada contraste significativo, una ventana temporal de 500 ms donde estimar dichos generadores neuroeléctricos. Se estableció como condición sine qua non que la señal en dicho intervalo fuera estadísticamente diferente de la línea base en los diferentes grupos analizados.

#### **3.6.4. Estimación de los generadores corticales de las oscilaciones EEG**

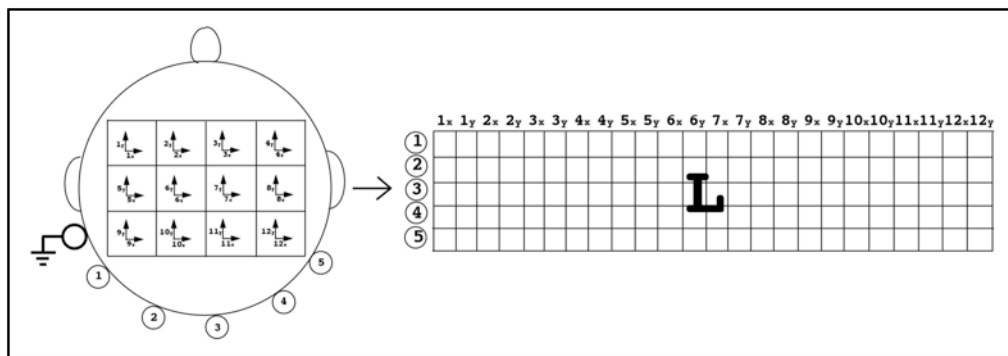
Para estimar la localización de los generadores corticales de las oscilaciones EEG se utilizó un método de filtrado espacial adaptativo basado en beamforming. A diferencia de los métodos basados en un modelo discreto de generadores múltiples, *beamforming* aplica un filtro inverso sobre los sensores que nos permite estimar la contribución de un generador en una localización específica del cerebro tras eliminar la contribución de cualquier otro generador que no se corresponda con la localización de interés (Gross *et al.*, 2001; Van Veen *et al.*, 1997). El resultado es una imagen cerebral 3D integrada por vóxeles que contienen diferentes valores de potencia espectral. Para obtener estos valores, se extrae de cada ensayo la distribución de campos eléctricos que contiene información tanto de la amplitud absoluta como de la fase

(Guderian & Düzel, 2005). Posteriormente, se calcula la matriz de densidad espectral cruzada (*cross-spectral matrix*) que se utilizará para estimar la potencia del generador en cada vóxel de la corteza. Para tal fin, se calculan las matrices de covarianza tanto para la línea base (500 ms) como para el intervalo de tiempo de interés en cada ensayo (500 ms). En cada uno de estos pasos, se aplica un valor de 0,001% como parámetro de regularización con respecto al primer valor singular obtenido tras la descomposición en valores singulares de la matriz de covarianza.

A continuación se calculó la matriz *leadfield* que es una representación lineal de la relación entre los generadores EEG y la potencia espectral recogida por los electrodos. Como se ilustra en la **Figura 9**, esta matriz refleja la contribución de los componentes ortogonales (x, y, z) de cada vóxel (fuente generadora) a cada electrodo de registro. En el presente trabajo, cada vóxel tenía un volumen de 5 mm<sup>3</sup>. Para obtener la matriz *leadfield* se utilizó un modelo de conducción realista basado en el método de elementos de frontera (Boundary Element Method, BEM) de tres compartimentos, cerebro, cráneo y cuero cabelludo, con conductividades de 0,33, 0,0042 y 0,33 S/m, respectivamente. El modelo está basado en una imagen de RM de alta resolución creada por el McConnell Brain Imaging Centre en el Montreal Neurological Institute (MNI) tras promediar 27 imágenes T1 de un sujeto representativo (Colin27) (Oostenveld *et al.*, 2001).

A continuación, se aplicó un filtrado espacial basado en *beamformer*. Este método es especialmente apropiado para analizar la actividad oscilatoria inducida dado que opera con los datos en bruto en lugar de con datos promedio y no requiere un conocimiento a priori del número de generadores activos. Sin embargo, esta aproximación no permite separar generadores EEG altamente correlacionados en el tiempo, ya que asume que el curso temporal de los distintos generadores no están correlacionados (Sekihara *et al.*, 2002). Como consecuencia, las intensidades de las fuentes generadoras son subestimadas y sus posiciones espaciales son incorrectamente localizadas. Para solventar este problema se aplicó el método de *beamformer* de núcleo dual (*dual-core beamformer*, DCBF) junto con un algoritmo modificado de Powell no lineal que permite identificar pares de fuentes correlacionadas que coexisten en el EEG de cada sujeto reduciendo el tiempo de cálculo empleado por otros

algoritmos (Diwakar *et al.*, 2011). La actividad procedente de fuentes correlacionadas se suprimió aplicando un *beamformer* de restricción múltiple (Dalal *et al.*, 2006; Sekihara *et al.*, 2004). El resultado es muy preciso independientemente de la razón-señal-ruido, del grado de correlación y de la intensidad de las fuentes generadoras. Este procedimiento se implementó en Matlab basándonos en los *beamformers* incluidos en el programa FieldTrip.



**Figura 9. Creación de la matriz *leadfield*.** Representación esquemática de la matriz *leadfield* L (panel derecho) a partir de 12 fuentes generadoras (recuadros en el interior de la cabeza, panel izquierdo) de la actividad registrada a partir de 5 electrodos (círculos en la periferia de la cabeza, panel izquierdo). Cada fuente se corresponde con una columna de L, cada electrodo con una fila, y cada entrada de L con el potencial medido en un electrodo particular como resultado de una fuente particular. Figura extraída de Weinstein *et al.* (1999).

A continuación se identificaron los pares de generadores que con más frecuencia mostraron las puntuaciones pseudo-z más altas (máxima correlación). Para ello, se realizaron 1.000 búsquedas por sujeto, obteniéndose un par de generadores en cada búsqueda. La mayoría de estos generadores correlacionados se encontraron en más de un 1,5% de las iteraciones. Tras descartar aquellos generadores encontrados en menos de 1,5% de las iteraciones y los que se hallaron separados por una distancia inferior a 5 cm, se obtuvieron aproximadamente 9 generadores correlacionados por sujeto. Al calcular los filtros espaciales de cada vóxel se tuvieron en cuenta las matrices *leadfields* de todos los generadores correlacionados de cada sujeto con el objetivo de suprimir la actividad de los mismos y estimar correctamente la actividad atribuida al vóxel de interés. Tras aplicar los filtros espaciales correspondientes a las

matrices de covarianza de cada ensayo, se obtuvieron mapas de puntuaciones pseudo-z normalizados para cada ensayo (Van Veen *et al.*, 1997). Esta normalización redujo la contribución del ruido cuya potencia espectral incrementa a medida que nos alejamos de los electrodos (Vrba & Robinson, 2001).

Por último, las señales de los vóxeles que mostraron máximos locales se reconstruyeron en el dominio del tiempo. Para obtener la orientación principal del dipolo del generador, los filtros se optimizaron utilizando una descomposición en valores singulares (Gross *et al.*, 2001). El filtro espacial optimizado se aplicó sobre las señales EEG filtradas en el intervalo de frecuencia de interés. A fin de calcular para cada ensayo los cambios de potencia espectral con respecto a la línea base se volvió a aplicar la transformada wavelet sobre las señales reconstruidas en el dominio del tiempo.

### **3.6.5 Análisis estadísticos a nivel de fuentes generadoras**

Primero se eliminó el efecto de la edad para cada ensayo aplicando el modelo lineal general utilizado por Stolk *et al.* (2013) para eliminar el movimiento de la cabeza de registros de MEG. Los contrastes estadísticos se basaron en un modelo jerárquico, a fin de minimizar la variabilidad interindividual (Holmes & Friston, 1998). Este modelo se realizó primero a nivel de sujeto y posteriormente a nivel de grupo. En los análisis individuales se comparó el periodo post-estímulo con el período de línea base mediante el estadístico *t* de Student para muestras independientes. A partir de estos resultados, se realizaron los contrastes a nivel de grupo.

El efecto de la congruencia semántica se evaluó mediante el estadístico *t* de Student para muestras relacionadas, mientras que las diferencias entre grupos se analizaron con el estadístico *t* para muestras independientes. La relación entre las oscilaciones EEG y los índices de memoria (*d'* asociativa y *d'* semántica) se evaluó para todos los sujetos y para diferentes grupos mediante el estadístico *r* de Spearman. Al contrario que la *r* de Pearson, éste estadístico es más robusto ante los valores atípicos y no requiere que la distribución multivariada de los estadísticos cumpla el criterio de normalidad (Pernet *et al.*, 2013). Para

evaluar la asociación entre las oscilaciones EEG y la  $d'$  asociativa se promediaron los resultados de potencia espectral para ambas condiciones de congruencia, mientras que para el índice  $d'$  semántica se restó la potencia espectral asociada a los ensayos incongruentes de los congruentes. Si las correlaciones alcanzaban la significación en al menos uno de los grupos, se comparaban estadísticamente los coeficientes de regresión de ambos grupos. Para ello, primero se transformaron los valores  $r$  a puntuaciones  $z$ , y luego se aplicó la prueba  $F$  de Fisher para muestras independientes. Estos análisis se realizaron inicialmente sobre toda la corteza y posteriormente sobre regiones de interés derivadas de otros contrastes.

Para reducir el número de falsos positivos debido al gran número de vóxeles analizados y comparaciones realizadas, se utilizó el método de Monte Carlo junto con el de clustering (Nichols & Holmes, 2002). Dado que este análisis asume dependencia entre los clusters (Random Field Theory), los mapas de cada sujeto fueron suavizados con un filtro Gaussiano de 10 mm implementado en SPM5 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>).

En aquellos casos en los que las comparaciones de grupo incluyeron muestras de tamaño distinto se introdujo una modificación en el procedimiento para evitar el sesgo debido a la diferencia en la razón señal-ruido. Para ello, se realizaron 1.000 aleatorizaciones dividiendo los datos en dos grupos de tamaño similar y manteniendo la asignación original del grupo fijado (*i.e.*, no se modificó el tamaño del grupo que contenía un menor número de sujetos). Posteriormente, se aplicó el estadístico correspondiente a cada una de estas aleatorizaciones y finalmente se promediaron los valores de  $t$  para cada vóxel. Las coordenadas del vóxel que mostró el estadístico máximo dentro de cada clúster significativo se transformaron desde el espacio MNI (Montreal Neurological Institute; Colin 27) al espacio Talairach (Talairach & Tournoux, 1988) mediante la función `mni2tal` de Matlab (<http://www.imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/MniTalairach>), con el objetivo de identificar el área de Brodmann (BA) según el WFU Pick Atlas (Maldjian *et al.*, 2003).



Tras reconstruir al tiempo la señal del vóxel que mostró el estadístico máximo se aplicó el mismo contraste estadístico para identificar aquellos intervalos de tiempo donde el contraste fue significativo. El estadístico se aplicó sobre una ventana de 50 ms que se iba moviendo a lo largo del periodo post-estímulo de interés (1000 ms) con saltos de 40 ms. Para controlar los falsos positivos en el dominio del tiempo se aplicó el método de asignación aleatoria y del máximo estadístico elevado al cuadrado (Maris, 2004; Nichols & Holmes, 2002).

### **3.7. Imágenes de resonancia magnética cerebral (RM)**

#### **3.7.1. Adquisición y pre-procesamiento**

Se adquirieron dos imágenes estructurales de RM cerebral (secuencia T1-3D) en un scanner Philips Intera 1,5 T (Philips, Holanda) equipado con una bobina de cráneo de 8 canales. La secuencia T1-3D se definió a partir de los siguientes parámetros: tiempo de repetición = 2300 ms, tiempo de eco = 4,5 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. 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.

Antes de realizar cualquier análisis cuantitativo, se eliminó el cráneo y el tejido extracerebral sobrante de cada imagen de RM cerebral. Esta labor se hizo, en primera instancia, mediante la aplicación de una aproximación híbrida que combina algoritmos watershed y superficies deformables (Segonne *et al.*, 2004), implementada en Freesurfer v5.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Los algoritmos watershed permiten determinar los límites de las regiones que integran una imagen compleja al mismo tiempo que clasifican los vóxeles según su proximidad espacial, el gradiente de sus niveles de gris y la homogeneidad de sus texturas (Vincent & Soille, 1991). Las imperfecciones derivadas del proceso de segmentación

automática realizado por Freesurfer fueron corregidas manualmente, corte a corte y en los 3 planos del cerebro, por un técnico con experiencia en este procedimiento.

### **3.7.2. Estimación y análisis del volumen del hipocampo y la amígdala**

La delimitación anatómica del hipocampo y la amígdala se realizó mediante un procedimiento de segmentación automática basado en inferencia Bayesiana y en un atlas probabilístico de estas dos estructuras obtenido a partir de estudios cerebrales *ex vivo* realizados a 15 sujetos con una RM de muy alta resolución (vóxel isotrópico de 0,13 mm de promedio) (Iglesias *et al.*, 2015). El volumen intracraneal también se calculó para cada individuo siguiendo el flujo de análisis de Freesurfer. A partir de este análisis se obtiene el volumen normalizado del hipocampo y de la amígdala (mm<sup>3</sup>) para cada hemisferio en cada sujeto. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS v.21 (SPSS Inc., Chicago, IL) para cada una de las dos estructuras por separado. Se aplicó un ANCOVA mixto con el grupo como factor inter-sujetos, el hemisferio como factor intra-sujetos y la edad como covariable. El error tipo I fue corregido mediante el método de Bonferroni.

### **3.7.3. Estimación y análisis del espesor cortical**

Las medidas de espesor cortical se obtuvieron a partir de la reconstrucción de las superficies corticales individuales con una precisión submilimétrica. El espesor cortical de cada vértice se definió como el promedio de la distancia mínima entre los vértices del límite de las sustancias gris y blanca y los vértices del límite de la superficie pial, calculados en ambas direcciones (Fischl & Dale, 2000). La superficie pial se ajustó a la topología de una esfera para obtener modelos geométricos de esta estructura con parámetros conocidos (Fischl *et al.*, 2001). A partir del modelo esférico de la corteza cerebral se obtuvo el mapa de espesor cortical de cada participante, que fue posteriormente registrado a la superficie esférica promedio de la población de sujetos empleada en este estudio. Esta superficie esférica promedio se obtuvo alineando los pliegues corticales de cada individuo al patrón de pliegues promedio de toda la población del

estudio. Este procedimiento ha mostrado mejorar la estimación del espesor cortical asignado a cada vértice (Fischl *et al.*, 1999).

Las diferencias de grupo en el espesor cortical fueron evaluadas utilizando un modelo estadístico jerárquico, que en un primer paso controla los falsos positivos a nivel de clúster mediante técnicas basadas en la teoría de campos aleatorios (*Random Field Theory*), para posteriormente controlar los falsos positivos a nivel de vértice dentro de cada clúster significativo mediante un procedimiento de *False Discovery Rate* adaptativa. Esta aproximación ha mostrado una mayor sensibilidad y especificidad que otras técnicas estadísticas convencionales, tanto en estudios de simulación como al aplicarlas sobre datos reales de pacientes con EA (Bernal-Rusiel *et al.*, 2010).

### **3.8. Análisis de mediación**

Para investigar si los cambios en las oscilaciones EEG de los pacientes con DCLa no portadores del genotipo *APOE4* refleja la activación de un mecanismo neural capaz de compensar el efecto que la atrofia cortical pudiera ejercer sobre la memoria se establecieron una serie de hipótesis causales. A fin de evaluar el ajuste del modelo teórico propuesto a partir de los resultados obtenidos se empleó un análisis de pautas (path analysis). Este método permite verificar la contribución directa de un conjunto de variables independientes sobre una variable dependiente, así como la interacción de estas variables independientes y su influencia indirecta sobre la variable dependiente (Aron & Aron, 2001). Un mediador (M) se considerará significativo cuando su inclusión como variable intermediaria en un modelo de pautas modifique significativamente la relación entre la variable independiente (X) y la variable dependiente (Y). Los modelos que incluyen dos mediadores se denominan modelos de mediador múltiple o modelos de mediación serial de tres pautas. En el presente trabajo, el modelo incluyó como mediador los resultados derivados de relacionar la potencia de las oscilaciones a nivel de fuentes generadoras con los índices de memoria. Por consiguiente, el análisis de mediación

debe aplicarse en cada vóxel del cluster significativo. Para evaluar estos modelos se utilizó la herramienta de mediación que se describe en Wager *et al.* (2008), que permite realizar estos análisis de manera automática utilizando permutaciones.

Las hipótesis concretas a evaluar con el análisis de mediación se comentarán en el apartado 4.2.4. Independientemente de estas hipótesis, para determinar que los mediadores ejercían un efecto significativo se requirió que el test de significación conjunta (cada una de las pautas,  $\beta_1$  en el modelo simple, y  $\beta_1$ ,  $\beta_3$  y  $\beta_5$  en el modelo serial mostrado en las **Figuras 18 y 20**) así como el producto de sus coeficientes ( $\beta_1 \cdot \beta_3$  en el modelo simple y  $\beta_1 \cdot \beta_3 \cdot \beta_5$  en el modelo serial) fueran significativamente distintos de cero en cada uno de los vóxeles (MacKinnon *et al.*, 2007). Aunque el efecto total de la variable independiente sobre la dependiente debe ser distinto de cero según algunos autores (MacKinnon *et al.*, 2007), para otros es innecesario (Hayes, 2013), por lo que no lo consideramos indispensable en el presente estudio.

Como el producto de los coeficientes no suele cumplir los criterios de normalidad (MacKinnon *et al.*, 2002), la significación estadística se determinó con el método de sesgo corregido y acelerado calculando intervalos de confianza mediante bootstrapping (N=5.000). El empleo de la técnica de bootstrapping ha mostrado ser de utilidad en los análisis de mediación cuando el tamaño de la muestra es pequeño (Efron & Tibshirani, 1993), arrojando una mayor sensibilidad y precisión que el test de Sobel (Sobel, 1982) y la aproximación de pasos causales (Baron & Kenny, 1986) para establecer la magnitud del efecto indirecto, y siendo una de las aproximaciones más robustas para evitar el error tipo I (Hayes, 2009). Los resultados mostrados corresponden al vóxel que mostró el máximo efecto de mediación en el modelo de tres pautas.

### 3.9. Análisis de regresión logística

Los análisis de predicción se realizaron en los pacientes con DCLa utilizando el volumen del hipocampo y la amígdala así como los resultados significativos de los generadores del EEG. Los análisis de regresión solo incluyeron aquellas medidas de RM y oscilaciones EEG que alcanzaron la significación estadística en los pacientes con DCLa que convirtieron a EA y que permanecieron estables, tanto en el contraste de grupo como en la correlación con los índices de memoria (*d' asociativa* y *d' semántica*). Para seleccionar las regiones de análisis de las oscilaciones EEG, se crearon esferas con un radio de 3 vóxeles. Este tamaño de esfera nos permitió incluir el vóxel que mostró el estadístico máximo además de evitar la inclusión de valores no significativos dentro de la propia esfera. Posteriormente, se promediaron los resultados de los vóxeles que formaban cada esfera y, finalmente, los resultados de las diferentes esferas que pertenecían a una misma área funcional (e.g., corteza parietal posterior superior).

Para cada fase de la tarea (*i.e.*, fase de estudio y fase de memoria) e intervalo de frecuencia en el que se encontraron diferencias de grupo significativas, se determinó el número de medidas EEG (*i.e.*, esferas significativas) a introducir en el modelo utilizando análisis de regresión logística binaria con el método de selección por pasos hacia adelante (*forward stepwise*) basado en el cociente de probabilidad (*likelihood ratio*). El mismo análisis se aplicó para el hipocampo y la amígdala, incluyendo como covariable el volumen intracraneal de cada sujeto. Todos los modelos fueron sometidos a procedimientos de validación cruzada empleando un 90% de la población de estudio como datos de entrenamiento y el 10% restante como datos de prueba (*leave-10-out*). Para reducir la variabilidad, se promediaron los resultados derivados de las 34 series de validación cruzada. La principal medida fue el promedio del área bajo la curva (*Area Under the Curve*, AUC) de la Característica Operativa del Receptor (*Receiver-Operating Characteristic*, ROC) con su intervalo de confianza correspondiente. Además, se calculó el promedio de la precisión general (*overall accuracy*), y la sensibilidad y especificidad

con el índice de Youden (sensibilidad + especificidad – 1). La significación estadística se evaluó con el test de permutaciones (N = 10.000).

Cada variable de RM (*i.e.*, volumen de hipocampo y/o amígdala) que sobrevivió al primer análisis (*forward stepwise*) se introdujo en un análisis de regresión logística con cada una de las variables EEG cuyo valor predictivo superó el 95% de la distribución. En estos casos, el volumen intracraneal también se incluyó como covariable. Estos modelos fueron sometidos igualmente a la validación cruzada y al test de permutaciones. Además, para determinar cuál de los modelos (*i.e.*, EEG, volumen de hipocampo/amígdala, EEG + volumen de hipocampo/amígdala) predecía mejor la conversión de DCLa a EA transcurridos dos años, se aplicó la prueba de Friedman y la de rangos con signos de Wilcoxon (con corrección de Bonferroni) sobre el AUC y las puntuaciones de precisión derivadas de los modelos de validación cruzada. Para aquellos modelos que incluyeron más de un predictor, se determinó la contribución relativa de cada uno de ellos mediante el análisis de pesos relativos. Finalmente, la significación estadística de la contribución de cada predictor se determinó con el método de sesgo corregido y acelerado calculando intervalos de confianza mediante bootstrapping (N=1.000).

## ***4. RESULTADOS***

---





## 4. RESULTADOS

Los resultados derivados del presente trabajo de Tesis han dado lugar a tres artículos científicos, uno publicado en la revista *Hippocampus* (Anexo I; Prieto del Val *et al.*, 2015), otro en *Scientific Reports* (Anexo II; Prieto del Val *et al.*, 2016), y un tercero que se encuentra bajo revisión. Con el objetivo de presentar un trabajo integrador, los resultados más relevantes en relación con los objetivos planteados se han agrupado en tres subapartados. El primero de ellos describe las características demográficas y el perfil neuropsicológico de cada uno de los grupos. El segundo trata de dar respuesta al primer objetivo del estudio, y se centra, por una parte, en investigar el impacto del genotipo *APOE4* en los DCLa sobre las diferentes variables dependientes estudiadas (*i.e.*, índices de memoria, cambios cerebrales estructurales, oscilaciones EEG registradas durante las fases de codificación y recuperación, así como los correlatos cerebrales estructurales y funcionales de la memoria) y, por otra, en determinar si las diferencias observadas en los correlatos electrofisiológicos de la memoria (*i.e.*, cambios en la potencia de las oscilaciones EEG) reflejan diferencias en la activación de los mecanismos de compensación neural. El tercer subapartado, relacionado con el segundo objetivo del estudio, se centra en los biomarcadores predictores de la conversión de DCLa a EA.

### 4.1. Características demográficas y perfil neuropsicológico

La **Tabla 1** muestra los resultados demográficos y neuropsicológicos de los controles y DCLa. Ambos grupos fueron estadísticamente homogéneos en edad, género y años de educación. A pesar de ello, la edad se introdujo como covariable en todos los análisis dada su influencia sobre las diferentes variables dependientes. Como cabría esperar, los controles mostraron puntuaciones más altas en el MMSE ( $p = 0,005$ ), así como en las pruebas de memoria inmediata ( $p = 0,001$ ) y demorada ( $p = 0,001$ ) de la Escala de Memoria de Wechsler.

**Tabla 1.** Perfil demográfico/neuropsicológico de la muestra.

	Controles (N = 26)	DCLa (N = 34)	<i>p</i>
Edad	66,7 ± 4,9	69,0 ± 6,7	0,1
Género (M / H)	13 / 13	22 / 12	0,2
Educación (años)	7,2 ± 4,3	7,5 ± 5,5	0,8
CDR	0	0,5	NA
MMSE	28,3 ± 1,3	26,8 ± 2,4	0,005*
Memoria inmediata	14,3 ± 3,0	9,7 ± 2,6	0,001*
Memoria demorada	13,2 ± 2,8	6,5 ± 3,6	0,001*

Nota: Media ± DT (desviación típica). M / H = mujer / hombre. CDR (*Clinical Dementia Rating*); CDR = 0 ausencia de demencia, CDR = 0,5 demencia cuestionable. MMSE (Mini examen cognoscitivo). NA = no aplicable.

La **Tabla 2** muestra los datos demográficos y neuropsicológicos de los DCLa en función de que fueran (DCLa  $\epsilon 4^+$ ) o no (DCLa  $\epsilon 4^-$ ) portadores del genotipo *APOE4* y de que hubieran desarrollado la EA transcurridos 2 años (DCLa-c) o hubieran permanecido estables (DCLa-e). Solo uno de los pacientes con DCLa  $\epsilon 4^+$  fue homocigoto para el alelo  $\epsilon 4$ . Los DCLa  $\epsilon 4^+$ , genotipo más frecuente en mujeres ( $p = 0,01$ ), mostraron una afectación selectiva de la memoria inmediata ( $p = 0,02$ ) respecto a los DCLa  $\epsilon 4^-$ . Cuando los pacientes fueron estratificados en función de la progresión de la EA, los DCLa-c presentaron una peor ejecución en la tarea de memoria demorada que los DCLa-e ( $p = 0,002$ ). No obstante, en la prueba de memoria inmediata, las diferencias entre estos dos grupos estuvieron muy cerca de alcanzar la significación estadística ( $p = 0,06$ ).

**Tabla 2.** Perfil demográfico/neuropsicológico de los DCLa en función del *APOE4* y de la progresión a EA.

	DCLa $\epsilon 4^-$ (n = 18)	DCLa $\epsilon 4^+$ (n = 16)	<i>p</i>	DCLa-e (n = 18)	DCLa-c (n = 16)	<i>p</i>
Edad	67,6 ± 7,5	70,5 ± 5,6	0,2	68,4 ± 7,1	69,7 ± 6,5	0,5
Género (M / H)	15 / 3	7 / 9	0,01*	13 / 5	9 / 7	0,3
Educación (años)	7,2 ± 4,9	7,8 ± 6,4	0,7	7,3 ± 5,1	7,7 ± 6,3	0,4
CDR	0,5	0,5	N/A	0,5	0,5	NA
MMSE	27,1 ± 2,4	26,0 ± 2,5	0,3	26,8 ± 2,1	26,4 ± 2,7	0,5
Memoria inmediata	10,6 ± 2,3	8,6 ± 2,5	0,02*	10,5 ± 2,3	8,9 ± 2,7	0,06
Memoria demorada	7,3 ± 3,7	5,5 ± 3,4	0,1	8,3 ± 3,4	4,5 ± 2,9	0,002*
<i>APOE</i> ( $\epsilon 4^-$ / $\epsilon 4^+$ )	NA	NA	NA	12 / 6	6 / 10	0,08
Conversión (nc / c)	12 / 6	6 / 10	0,08	NA	NA	NA

Nota: Media ± DT (desviación típica). M/H = mujer/hombre. CDR (Clinical Dementia Rating); CDR = 0 ausencia de demencia, CDR = 0,5 demencia cuestionable. MMSE (Mini examen cognoscitivo); e = permanecen estables y no convierten a EA; c = convierten a EA. NA = no aplicable. \*resalta la significación estadística.

## 4.2. Correlatos cerebrales estructurales y funcionales de la memoria asociados al genotipo *APOE4* en el DCLa

En esta sección se expondrán tanto las alteraciones de memoria como los cambios cerebrales estructurales y funcionales asociados al genotipo *APOE4* en el DCLa. A continuación, se describirán los correlatos estructurales y funcionales de la memoria visuoespacial, derivados de los descriptores de RM y de las oscilaciones EEG. Por último, se presentarán los modelos causales que permitirán interpretar las diferencias asociadas al genotipo *APOE4* como un reflejo de las diferencias en la activación de mecanismos neurales compensatorios.

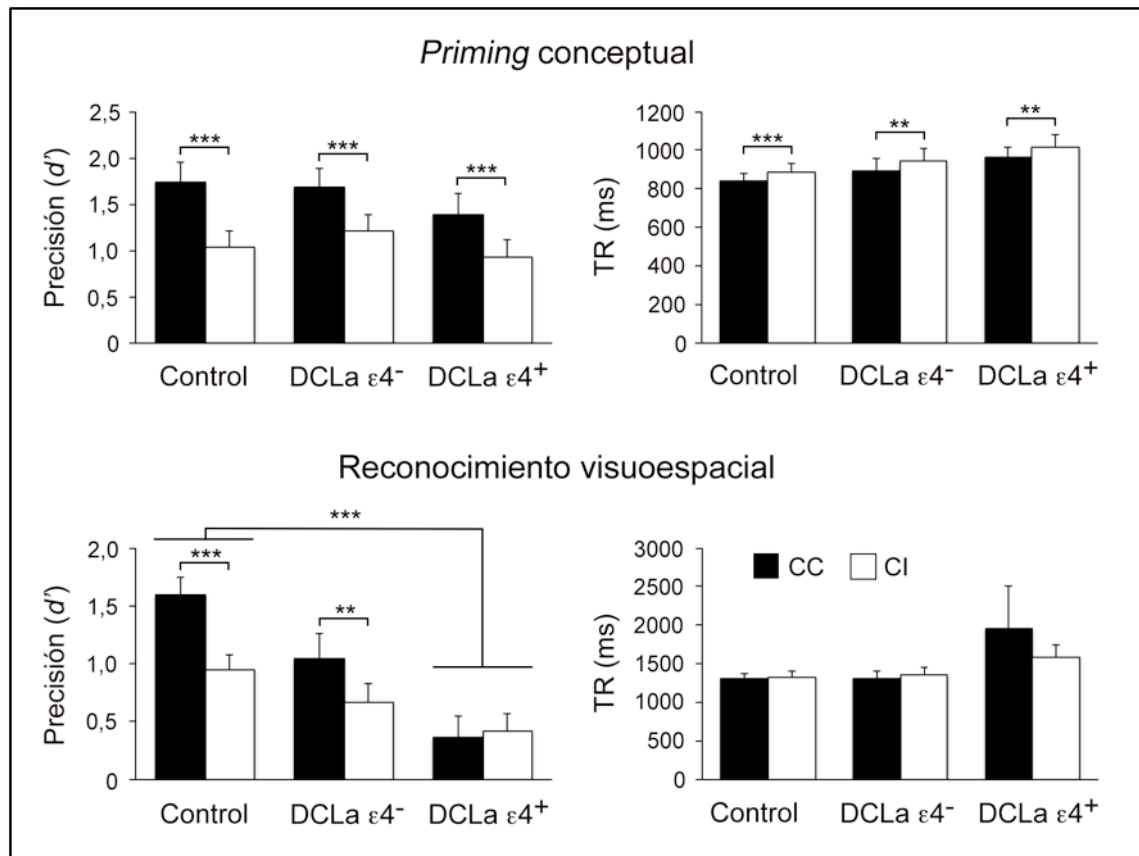
### 4.2.1. Resultados comportamentales

Las medidas de precisión  $d'$  y los TR en las diferentes tareas se evaluaron mediante un ANCOVA que incluyó la congruencia (CC: caras congruentes, CI: caras incongruentes) como variable intra-sujetos, el grupo (control, DCLa  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) como variable inter-sujetos y la edad como covariable. El ANCOVA realizado sobre los datos derivados de la fase de

codificación no arrojó ni efectos principales ni efecto de interacción. Por lo tanto, la variabilidad en la ejecución de la tarea de congruencia semántica durante la codificación no tuvo influencia sobre las diferencias observadas en las tareas de memoria.

La **Figura 10** muestra los resultados obtenidos en las dos pruebas de memoria. En la prueba de *priming* conceptual, la congruencia semántica mejoró la precisión ( $d'$ ) ( $F_{1,56} = 136,4$ ;  $p < 10^{-16}$ ) y redujo los TR ( $F_{1,56} = 28,1$ ;  $p < 10^{-5}$ ). El hecho de que no hubiera efecto principal de grupo ni tampoco de interacción sugiere que el *priming* fue efectivo en los tres grupos del estudio. Por lo tanto, las diferencias observadas en la tarea de reconocimiento visuoespacial difícilmente podrían explicarse por la forma en que cada grupo accedió a la información semántica primada durante la fase de codificación.

La tarea de reconocimiento visuoespacial arrojó un efecto principal del grupo ( $F_{2,56} = 6,0$ ;  $p = 0,004$ ) que se explica fundamentalmente por la peor ejecución mostrada por los DCLa  $\epsilon 4^+$  respecto a los controles ( $p = 0,001$ ). Aunque los DCLa  $\epsilon 4^-$  también mostraron peores resultados que los controles en esta tarea, las diferencias no alcanzaron la significación estadística ( $p = 0,065$ ). No hubo efecto principal de la congruencia porque dicho efecto estuvo condicionado por la presencia del genotipo APOE4 en los DCLa como se deriva del efecto de interacción ( $F_{2,56} = 9,3$ ;  $p = 0,0003$ ). En la **Figura 10** puede apreciarse que solo los controles ( $p < 10^{-7}$ ) y los DCLa  $\epsilon 4^-$  ( $p = 0,002$ ) se beneficiaron de la congruencia semántica para recordar correctamente la localización de las caras famosas. De hecho, las diferencias de grupo solo fueron significativas para el reconocimiento de las CC. En particular, los controles recordaron mejor las CC que los DCLa  $\epsilon 4^-$  ( $p = 0,038$ ) y que los DCLa  $\epsilon 4^+$  ( $p = 0,00008$ ), al mismo tiempo que los DCLa  $\epsilon 4^-$  también mostraron mejores puntuaciones que los DCLa  $\epsilon 4^+$  en este aspecto ( $p = 0,039$ ). Por el contrario, los TR no difirieron significativamente entre los diferentes grupos, a pesar de que los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron TR más lentos ante las CC que el resto de los grupos.



**Figura 10. Resultados comportamentales en las pruebas de memoria. A)** Tarea de *priming* conceptual. **B)** Tarea de reconocimiento visuoespacial. En ambos casos se muestran las medias y errores estándar de la media para la  $d'$  y los TR ante las caras congruentes (CC, barras negras) e incongruentes (CI, barras blancas) en cada uno de los grupos evaluados. \*\*\* $p_{post-hoc} < 0,001$ ; \*\* $p_{post-hoc} < 0,005$ .

La **Tabla 3** muestra las medias y desviaciones estándar de los índices  $d'$  asociativa y  $d'$  semántica obtenidos en la prueba de memoria visuoespacial para cada uno de los grupos. Estas variables se utilizaron en los análisis de regresión que posteriormente se llevaron a cabo para evaluar la relación entre la memoria y los cambios cerebrales estructurales y funcionales. Como cabría esperar, se observó un efecto principal del grupo tanto para la  $d'$  asociativa ( $F_{2,56} = 5,8$ ;  $p = 0,005$ ) como para la  $d'$  semántica ( $F_{2,55} = 9,3$ ;  $p = 0,0003$ ). Estas diferencias se debieron sobre todo a que los DCLa ε4<sup>+</sup> mostraron un mayor deterioro de la memoria asociativa que los controles ( $p = 0,001$ ) y a su incapacidad para beneficiarse de la congruencia semántica ( $p = 0,014$ ).

**Tabla 3.** Media y desviación estándar de los índices de memoria de precisión ( $d'$ ) obtenidos en la tarea visuoespacial.

Índice memoria	Control	DCLa $\epsilon 4^-$	DCLa $\epsilon 4^+$
$d'$ asociativa	1,3 $\pm$ 0,6	0,9 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 0,6
$d'$ semántica	0,6 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,5	-0,1 $\pm$ 0,4

#### 4.2.2. Resultados derivados de los descriptores de RM

##### 4.2.2.1. Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre el volumen de estructuras del lóbulo temporal medial y sobre el espesor de la corteza

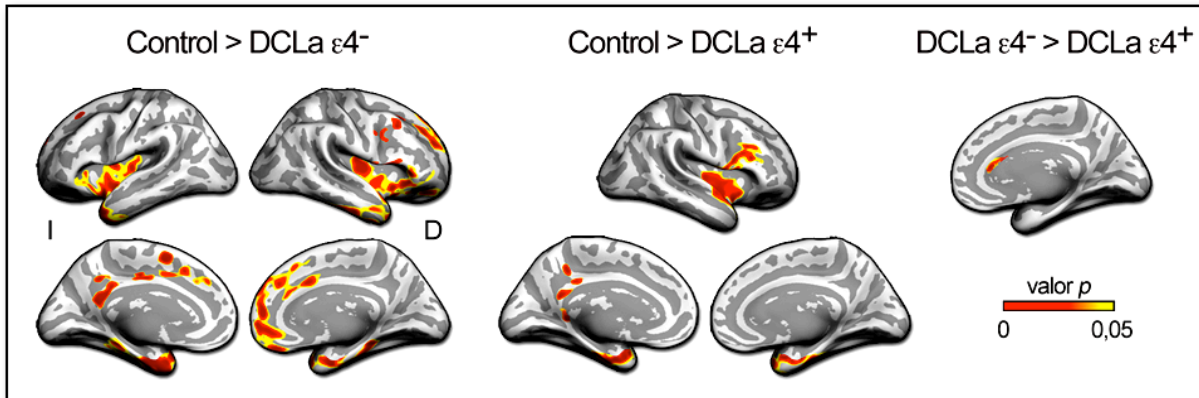
Las estructuras del lóbulo temporal medial, concretamente el hipocampo y la amígdala, además de jugar un papel fundamental en los procesos de memoria presentan un grado similar de atrofia en el transcurso de la EA (Horínek *et al.*, 2007; Klein-Koerkamp *et al.*, 2014). Para evaluar las diferencias de grupo en el volumen de estas dos estructuras cerebrales se emplearon ANCOVAs con el grupo como variable inter-sujetos, el hemisferio como variable intra-sujetos y la edad como covariable. Los análisis reflejaron un efecto principal del grupo para el hipocampo ( $F_{2,56} = 6,0$ ;  $p = 0,004$ ) y la amígdala ( $F_{2,56} = 4,7$ ;  $p = 0,013$ ). Ambas estructuras cerebrales mostraron un mayor volumen en los controles que en DCLa  $\epsilon 4^-$  y DCLa  $\epsilon 4^+$ , mientras que no hubo diferencias entre estos dos últimos grupos.

El espesor de la corteza se evaluó a nivel de vértice (*vertex-wise*) con un ANCOVA para cada hemisferio, que incluyó el grupo como variable inter-sujetos y la edad como covariable. Tal como se muestra en la **Tabla 4** y se ilustra en la **Figura 11**, los DCLa presentaron una disminución significativa del espesor cortical respecto a los controles en regiones laterales y mediales de los lóbulos frontales y temporales así como en áreas mediales del lóbulo parietal, concretamente en el precúneo y cíngulo posterior. El cíngulo anterior derecho fue la única región cortical en la que los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron una reducción significativa de espesor respecto a los DCLa  $\epsilon 4^-$ .

**Tabla 4.** Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en el espesor cortical.

Contraste Áreas corticales	TC (mm <sup>2</sup> )	Espesor cortical		% Atrofia	$p_{FWE}$
		Control	DCLa $\epsilon 4^-$		
<b>Control &gt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>		<b>Control</b>	<b>DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>		
I Cingulado posterior – Precúneo	623,8	2,6 ± 0,14	2,2 ± 0,26	14,7	10 <sup>-4</sup>
I Lóbulo temporal medial – Polo temporal – Ínsula	3928,7	3,0 ± 0,18	2,5 ± 0,34	15,7	10 <sup>-4</sup>
I Ínsula	69	2,5 ± 0,28	2,2 ± 0,31	12,6	0,004
I Giro frontal superior	103,1	2,5 ± 0,26	2,1 ± 0,34	16,9	10 <sup>-5</sup>
I Giro frontal superior	76,5	2,7 ± 0,23	2,3 ± 0,34	15,1	10 <sup>-4</sup>
I Giro frontal superior	78,7	2,9 ± 0,24	2,6 ± 0,39	12,5	0,002
D Ínsula	377,5	2,5 ± 0,28	2,1 ± 0,31	15,2	10 <sup>-4</sup>
D Ínsula	382	3,0 ± 0,23	2,7 ± 0,26	11,8	10 <sup>-4</sup>
D Ínsula	305,2	2,9 ± 0,42	2,4 ± 0,38	18,0	10 <sup>-4</sup>
D Ínsula	198,5	3,5 ± 0,43	3,0 ± 0,47	13,0	0,003
D Lóbulo temporal medial – Polo temporal	2447,8	3,0 ± 0,22	2,6 ± 0,25	14,1	10 <sup>-4</sup>
D Cingulado anterior – Giro frontal superior – Orbitofrontal – Polo frontal	648,4	2,7 ± 0,17	2,3 ± 0,30	14,6	10 <sup>-4</sup>
D Giro frontal superior	386	2,4 ± 0,23	2,1 ± 0,24	13,8	10 <sup>-4</sup>
D Orbitofrontal	286	2,5 ± 0,32	2,1 ± 0,33	15,8	0,0003
D Giro frontal superior	196	2,9 ± 0,36	2,5 ± 0,36	14,4	0,0004
D Giro frontal superior	402,7	2,3 ± 0,24	2,0 ± 0,29	14,9	0,001
<b>Control &gt; DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>		<b>Control</b>	<b>DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>		
I Cingulado posterior – Precúneo	127,8	2,5 ± 0,34	2,1 ± 0,47	13,8	10 <sup>-4</sup>
I Cingulado posterior	87,4	2,8 ± 0,24	2,3 ± 0,27	15,2	0,0002
I Lóbulo temporal medial – Polo temporal	597	3,2 ± 0,28	2,4 ± 0,48	23,9	10 <sup>-4</sup>
I Giro orbitofrontal medial – Cingulado anterior	221,3	2,5 ± 0,29	2,0 ± 0,28	18,9	0,0003
I Giro frontal medio – Giro frontal superior	125	2,5 ± 0,20	2,1 ± 0,25	14,1	0,0009
D Lóbulo temporal medial – Polo temporal	312,7	3,3 ± 0,44	2,6 ± 0,53	21,0	10 <sup>-4</sup>
D Temporal inferior	322,5	3,0 ± 0,33	2,4 ± 0,43	18,7	0,0001
D Ínsula – Giro temporal superior	806,5	3,3 ± 0,31	2,6 ± 0,35	18,7	10 <sup>-5</sup>
D Precúneo	228,7	2,7 ± 0,19	2,3 ± 0,21	16,2	10 <sup>-4</sup>
D Parietal superior	140,1	2,3 ± 0,27	1,9 ± 0,37	17,2	0,0002
D Giro frontal medio - Pars opercularis	376,8	2,4 ± 0,23	2,0 ± 0,21	16,8	0,0002
D Pars triangularis	223,9	2,4 ± 0,29	2,0 ± 0,26	17,8	0,0005
D Precentral	302,2	2,4 ± 0,27	2,1 ± 0,32	14,4	0,0005
<b>DCLa <math>\epsilon 4^-</math> &gt; DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>		<b>DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>	<b>DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>		
D Cingulado anterior	117,3	2,6 ± 0,47	2,1 ± 0,37	16,7	0,002

Nota: TC: tamaño del clúster; DE = desviación estándar; I = izquierdo; D = derecho.



**Figura 11. Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en el espesor cortical.** Mapas estadísticos paramétricos corregidos por FWE mostrando la distribución topográfica de las diferencias de grupo. Nótese que los controles mostraron mayor espesor cortical que los DCLa independientemente de la presencia del genotipo APOE4. I = izquierdo; D = derecho.

#### 4.2.2.2. Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre los correlatos cerebrales estructurales de la memoria

A continuación se evaluó si las diferencias de grupo observadas a nivel estructural guardaban relación con los niveles de ejecución en la prueba visuoespacial. Primero se hicieron análisis de regresión en cada grupo, y si los coeficientes eran significativos en al menos uno de los grupos, se evaluó estadísticamente si estos diferían del resto de los grupos.

Los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron una relación significativa entre el volumen del hipocampo derecho y la  $d'$  asociativa ( $F_{2,15} = 10,02$ ;  $p = 0,002$ ), de manera que cuanto menor fue el volumen del hipocampo peor fue el reconocimiento visuoespacial. Sin embargo, no se observaron diferencias al comparar los coeficientes de regresión con el resto de grupos. Ninguna de las estructuras del lóbulo temporal medial mostró relación con la  $d'$  semántica en ninguno de los grupos.

En lo que respecta al espesor de la corteza, solo los DCLa  $\epsilon 4^-$  mostraron correlaciones significativas entre la  $d'$  asociativa y el espesor cortical del clúster localizado en regiones del lóbulo temporal derecho, que incluyó áreas del lóbulo temporal medial y del polo temporal ( $F_{2,17} = 6,05$ ;  $p = 0,026$ ). Los coeficientes de regresión fueron mayores cuando se compararon con



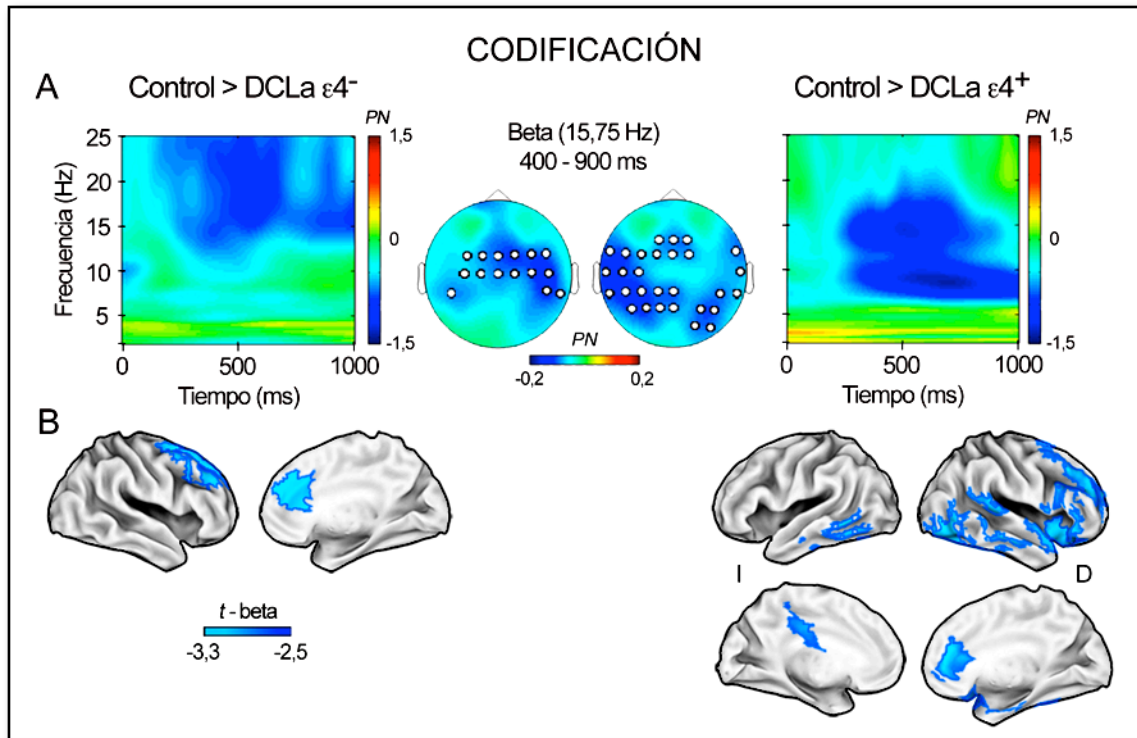
los controles ( $\beta = 0,59$ ;  $t = 2,6$ ;  $p = 0,014$ ), pero no hubo diferencias significativas al comparar con los DCLa  $\epsilon 4^+$ .

#### 4.2.3. Resultados derivados de las oscilaciones EEG

Primero se evaluó si la condición de DCLa asociada al genotipo *APOE4* suponía una diferencia en la dinámica espectro-temporal y espacial de las oscilaciones EEG registradas durante la codificación y posterior recuperación de las asociaciones recordadas correctamente durante la tarea de reconocimiento visuoespacial. Para ello se aplicó una estadística multivariada, primero a nivel de sensor (PLS, ver apartado 3.6.3) y luego a nivel de fuentes generadoras del EEG (estadística jerárquica, ver apartado 3.6.5).

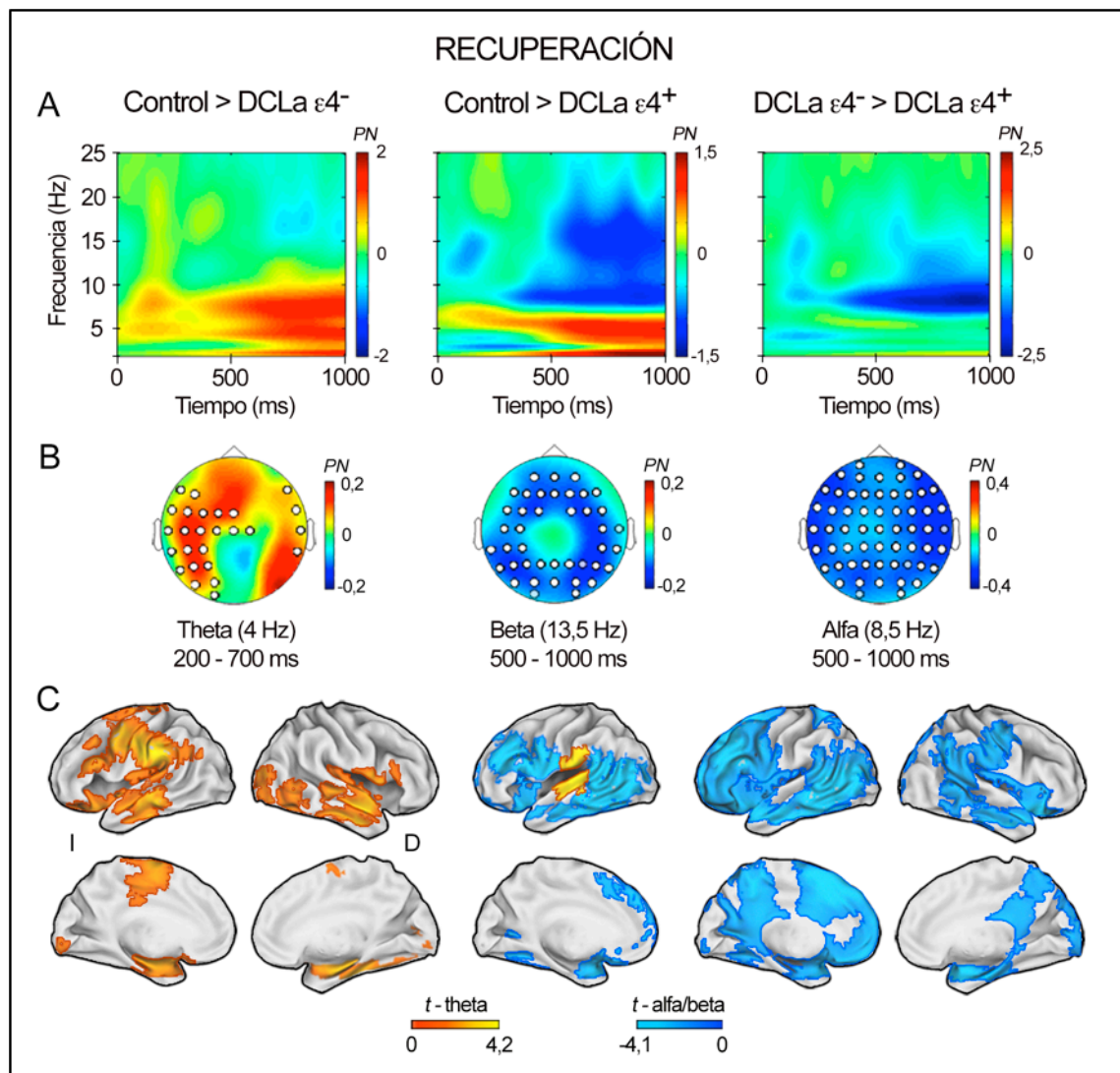
Tras la presentación de las caras en una localización particular, tanto en la fase de codificación como de recuperación, todos los grupos mostraron actividad sincronizada (*i.e.*, incremento de potencia espectral respecto a la línea base) en el rango de theta seguida de actividad desincronizada (*i.e.*, decremento de potencia espectral respecto a la línea base) en el rango de alfa/beta. Sin embargo, las comparaciones de grupo mostraron diferencias significativas en distintos rangos de frecuencia y en distintas ventanas de tiempo en cada una de estas fases. Las **Figuras 12** y **13** muestran las diferencias de grupo durante la codificación y posterior recuperación, respectivamente, así como las ventanas espectro-temporales seleccionadas para la estimación de las fuentes generadoras del EEG, la distribución topográfica de las diferencias de grupo en la potencia de las oscilaciones EEG en dichos intervalos de tiempo, y los electrodos en los que el PLS mostró diferencias de grupo significativas.

Durante la codificación, los controles mostraron un mayor nivel de desincronización en el rango de beta comparado con los DCLa. Este resultado se extendió a la comparación con los DCLa  $\epsilon 4^+$  (13-17 Hz; 250-800 ms;  $p = 0,03$ ) y con los DCLa  $\epsilon 4^-$  (13-25 Hz; 200-1000 ms;  $p = 0,036$ ). Sin embargo, la distribución topográfica de las diferencias de grupo estuvo condicionada por el genotipo *APOE4*, más central en el caso de la comparación con los DCLa  $\epsilon 4^-$  y más fronto-temporo-parietal en el caso de la comparación con los DCLa  $\epsilon 4^-$  (**Figura 12A**).



**Figura 12. Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en las oscilaciones beta durante la codificación. A)** Representación de la potencia normalizada (PN) en el dominio del tiempo y la frecuencia de las diferencias de grupo promediadas en aquellos electrodos donde el PLS mostró un efecto principal del grupo. Estos electrodos se muestran en los mapas topográficos del panel central. Dichos mapas muestran la distribución topográfica de la señal promediada en el intervalo espectral-temporal en el que se estimaron las fuentes generadoras de esta actividad. **B)** Distribución topográfica de las diferencias de grupo a nivel de fuentes generadoras (estadísticos *t* corregidos por FWE). El color azul indica que los controles mostraron una mayor desincronización en el rango de beta que el grupo con DCLa ( $\epsilon 4^-$  o  $\epsilon 4^+$ ). Para más información sobre este contraste ver Tabla 5. I = izquierdo; D = derecho.

Durante la recuperación, tal como se ilustra en la **Figura 13A**, se observó un incremento en la sincronización de theta en los controles respecto a los DCLa  $\epsilon 4^-$  (4-7 Hz; 400-1000 ms;  $p = 0,04$ ), una mayor desincronización de beta en los controles que en los DCLa  $\epsilon 4^+$  (13-18 Hz; 600-1000 ms;  $p = 0,03$ ) y una mayor desincronización de alfa en los DCLa  $\epsilon 4^-$  que en los DCLa  $\epsilon 4^+$  (7-8,5 Hz; 500-1000 ms;  $p = 0,0003$ ). La distribución topográfica de estas diferencias se muestra en la **Figura 13B**.



**Figura 13. Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en diferentes rangos de frecuencia durante la recuperación. A)** Representación de la potencia normalizada (PN) en el dominio del tiempo y la frecuencia de las diferencias de grupo promediadas en aquellos electrodos donde el PLS mostró un efecto principal del grupo. **B)** Distribución topográfica que incluye los electrodos que fueron significativos a partir de la señal promediada en el intervalo espectro-temporal en el que se estimaron las fuentes generadoras de esta actividad. **C)** Distribución topográfica de las diferencias de grupo a nivel de fuentes generadoras (estadísticos  $t$  corregidos por FWE). El color naranja indica que el primer grupo del contraste mostró una mayor sincronización en el rango de theta que el segundo grupo de la comparación, mientras que el color azul indica que mostró una mayor desincronización en el rango de alfa/beta. Para más información sobre este contraste ver Tabla 6. I = izquierdo; D = derecho.

Para establecer el intervalo espectro-temporal donde estimar las fuentes generadoras de las oscilaciones EEG, se seleccionó una ventana de 500 ms (mínimo tiempo requerido para incluir al menos dos ciclos de las oscilaciones analizadas) cuyo componente de frecuencia incluyera i) datos significativos del contraste de grupo en el PLS, ii) el máximo estadístico corregido por múltiples comparaciones en el contraste de grupo realizado tras promediar las señales de los electrodos significativos en el PLS, y iii) datos significativos del contraste de línea base derivados del PLS para cada grupo.

Durante la codificación, controles y DCLa mostraron diferencias significativas en el rango de beta, independientemente de que portaran o no el genotipo APOE4. Es por ello que se decidió seleccionar una única ventana para los dos contrastes de grupo, para lo cual se repitió el PLS comparando controles y DCLa. Las diferencias de grupo fueron significativas entre 13-17 Hz y 250-750 ms (máximo estadístico en 15,75 Hz a los 516 ms). Dado que las diferencias al comparar con la línea base comenzaron a ser evidentes a partir de los 400 ms, las fuentes generadoras fueron estimadas entre 400-900 ms. También se estimaron los generadores para el componente 13,5 Hz, porque además de mostrar diferencias de grupo en la codificación (**Figura 12A**) se correspondió con el máximo estadístico del contraste de la congruencia (mayor desincronización de beta para las CC que para las CI). Por simplicidad, aquí no distinguiremos entre los resultados procedentes de estos dos componentes de frecuencia (*i.e.*, 15,75 Hz y 13,5 Hz) y ambos se englobarán bajo el término beta. Durante la recuperación, las fuentes generadoras se estimaron en las siguientes ventanas espectro-temporales: i) theta (4 Hz) en el intervalo 200-700 ms; ii) alfa (8,5 Hz) en el intervalo 500-1000 ms, y iii) beta (13,5 Hz) en el intervalo 500-1000 ms.

**Tabla 5.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) durante la codificación.

Región cortical	BA	x	y	z	$t_{fuente}$	Tiempo (ms)	$t_{tiempo}$	p
<b>Beta (desincronización)</b>								
<b>Control &gt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>								
$P_{cluster\ FWE} < 0,002$								
D Giro frontal superior	8	20	27	43	-3,2	468-780	-4,1 / -2,4	0,0002-0,02
D Giro frontal medio	6	25	27	48	-3,2	0-1000	-4,6 / -2,8	0,004-0,005
D Cingulado anterior	32	10	32	28	-3,3	364-1000	-3,8 / -2,2	0,004-0,01
<b>Control &gt; DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>								
$P_{cluster\ FWE} < 0,002$								
D Giro frontal medio	9/6/8	40	47	28	-3,4	260-1000	-4,1 / -2,6	0,0002-0,02
D Giro frontal inferior	47/46	55	22	-12	-2,9	468-1000	-3,4 / -2,3	0,001-0,02
D Cingulado anterior	32	25	37	13	-2,9	364-1000	-3,4 / -2,4	0,001-0,02
D Ínsula	13	50	12	-7	-3,1	468-1000	-3,4 / -2,4	0,001-0,02
D Giro temporal superior	22	55	7	-2	-2,9	468-1000	-3,4 / -2,3	0,001-0,01
D Giro temporal medio	19	60	-63	18	-2,7	364-1000	-3,5 / -2,4	0,001-0,02
D Giro temporal inferior	20	70	-33	-22	-3,1	468-780	-2,7 / -2,4	0,01-0,02
D Giro occipital medio	18	50	-78	-7	-3,0	208-1000	-3,1 / -2,6	0,003-0,03
$P_{cluster\ FWE} < 0,03$								
I Cingulado posterior	31	-10	-28	38	-0,8	468-780	-2,8 / -2,4	0,006-0,02
I Precúneo	7/5	-10	-43	53	-0,8	468-728	-2,8 / -2,4	0,007-0,02
$P_{cluster\ FWE} < 0,05$								
I Giro temporal medio	21	-60	-63	3	-1,1	52-988	-5,0 / -2,6	$10^{-5}$ -0,01
I Giro temporal inferior	37	-65	-58	-7	-1,0	208-988	-4,6 / -2,2	0,0005-0,03
	20	-65	-23	-22	-0,9	520-988	-2,8 / -2,3	0,007-0,02

Nota: La dirección del contraste indica que el primer grupo mostró una desincronización de alfa/beta de mayor magnitud que el segundo grupo. BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

Las **Figuras 12B** y **13C** muestran la distribución topográfica de las diferencias de grupo a nivel de fuentes generadoras para cada uno de los componentes de frecuencia en las fases de codificación y recuperación, respectivamente. La información sobre los clúster significativos para cada contraste se muestra en las **Tablas 5** (codificación) y **6** (recuperación). Estas tablas, y otras similares que se mostrarán más adelante, incluyen el valor de  $p$  corregido por FWE para

cada clúster significativo, las coordenadas de los máximos locales identificados dentro de cada clúster, la región cortical y el área de Brodmann donde se localizaron dichos vóxeles, y el valor del estadístico máximo a nivel de generadores. En el presente trabajo, un clúster solo se consideró significativo si el mismo contraste también lo fue tras la reconstrucción temporal de la señal. Es por ello que las tablas incluyen además el intervalo temporal en el que las diferencias fueron significativas tras la corrección por múltiples comparaciones, el intervalo de los valores del estadístico y el intervalo de los valores de  $p$ .

**Tabla 6.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) durante la recuperación.

Región cortical	BA	x	y	z	$t_{fuente}$	Tiempo (ms)	$t_{tiempo}$	$p$
<b>Theta (sincronía)</b>								
<b>Control &gt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>								
$P_{cluster FWE} < 0,03$								
I Giro frontal superior	6	-25	7	73	2,3	668-980	2,4 / 2,2	0,01-0,02
I Giro frontal inferior	9	-60	17	28	2,6	252-980	3,3 / 2,1	0,002-0,04
	47	-30	22	-12	2,7	408-980	3,0 / 2,5	0,004-0,01
	45	-60	27	18	2,6	304-772	4,2 / 2,4	0,004-0,02
I Giro precentral	6	-60	2	43	3,2	148-772	2,8 / 2,4	0,006-0,02
I Giro postcentral	1	-55	-13	48	3,1	252-980	3,4 / 2,4	0,001-0,01
	2	-60	-18	48	3,1	200-876	2,4 / 3,4	0,001-0,03
	3	-55	-8	53	3,1	304-980	3,3 / 2,6	0,002-0,02
I Lóbulo parietal inferior	40	-55	-28	33	3,8	96-720	4,2 / 2,3	0,001-0,02
I Giro lingual	18	0	-103	-2	2,4	44-564	3,4 / 2,4	0,001-0,02
I Giro temporal medio	21	-70	-28	-7	3,2	148-980	3,7 / 2,3	0,001-0,01
D Giro precentral	44	65	7	3	3,1	252-772	3,4 / 2,2	0,001-0,03
D Cúneo	17	15	-83	13	2,1	304-460	2,4 / 2,3	0,01-0,02
D Giro occipital medio	18	40	-88	18	2,6	96-980	3,4 / 2,5	0,001-0,01
D Giro temporal superior	38	60	12	-22	2,3	252-876	2,9 / 2,3	0,006-0,02
D Giro temporal medio	21	50	-8	-12	3,4	200-980	4,0 / 2,2	0,001-0,03
D Giro fusiforme	37	45	-63	-7	2,5	200-512	2,9 / 2,4	0,006-0,02
D Giro parahipocampal	36	35	-33	-22	3,1	96-616	3,3 / 2,2	0,002-0,03

**Control > DCLa  $\epsilon 4^+$**  $P_{cluster\ FWE} < 0,01$ 

I Lóbulo parietal inferior	40	-65	-33	38	2,7	252-980	3,7 / 2,5	0,001-0,01
I Giro temporal transverso	42	-65	-8	8	2,3	252-980	3,1 / 2,3	0,003-0,03
I Giro temporal superior	41	-55	-23	3	2,7	252-980	4,7 / 2,4	$10^{-4}$ -0,02

**Beta (desincronización)****Control > DCLa  $\epsilon 4^+$**  $P_{cluster\ FWE} < 0,001$ 

D Giro frontal superior	6	35	2	68	-1,0	512-980	-4,1 / -2,5	0,001-0,01
-------------------------	---	----	---	----	------	---------	-------------	------------

 $P_{cluster\ FWE} < 0,01$ 

I Giro temporal superior	22	-60	-8	3	-1,0	460-980	-4,0 / -2,5	0,001-0,01
I Giro temporal transverso	42	-65	-13	8	-1,0	460-980	-3,6 / -2,7	0,001-0,01
I Giro temporal medio	21	-55	-3	-17	-0,9	356-980	-3,3 / -2,5	0,002-0,01

 $P_{cluster\ FWE} < 0,02$ 

I Lóbulo parietal inferior	40	-55	-43	53	-0,8	356-980	-3,9 / -2,3	0,001-0,02
----------------------------	----	-----	-----	----	------	---------	-------------	------------

**Alfa (desincronización)****DCLa  $\epsilon 4^-$  > DCLa  $\epsilon 4^+$**  $P_{cluster\ FWE} < 0,006$ 

I Giro frontal superior	6	-15	17	68	-4,2	304-980	-5,0 / -2,4	$10^{-4}$ -0,02
I Giro frontal inferior	45	-30	32	-2	-2,7	44-980	-3,7 / -2,8	0,001-0,004
I Giro frontal medio	6	-20	22	63	-4,1	305-980	-4,6 / -2,6	$10^{-4}$ -0,01
I Giro frontal medial	9	-5	62	33	-3,1	408-980	-3,8 / -2,7	0,001-0,01
	10	-5	47	-17	-3,0	44-980	-3,5 / -2,7	0,001-0,01
I Giro cingulado posterior	29	-5	-38	13	-2,8	356-980	-3,5 / -2,6	0,001-0,01
I Giro temporal superior	38	-50	12	-17	-3,7	460-980	-4,2 / -2,9	0,001-0,007
I Giro temporal medio	21	-65	-48	-2	-4,1	460-980	-5,2 / -2,4	$10^{-5}$ -0,02
I Giro temporal inferior	19	-50	-58	3	-4,0	356-980	-4,4 / -2,6	$10^{-4}$ -0,01
D Giro cingulado anterior	24	10	-3	33	-2,6	44-980	-3,4 / -2,8	0,001-0,009
D Lóbulo parietal superior	7	15	-68	68	-2,8	512-980	-3,3 / -2,3	0,002-0,01
D Lóbulo parietal inferior	40	60	-53	43	-2,7	616-980	-2,4 / -2,4	0,02-0,01
D Precúneo	7	25	-73	63	-2,6	720-772	-2,6 / -2,4	0,01-0,02
D Cúneo	18	20	-103	8	-2,6	304-980	-3,3 / -2,4	0,002-0,02
D Giro occipital medio	18	15	-98	18	-2,9	356-980	-4,4 / -2,6	$10^{-4}$ -0,01
D Giro angular	39	55	-58	38	-2,8	356-980	-4,0 / -2,5	0,001-0,01
D Giro fusiforme	20	45	-28	-22	-3,0	148-980	-3,9 / -2,3	0,001-0,03

Nota: La dirección del contraste indica que el primer grupo mostró una sincronización de theta o una desincronización de alfa/beta de mayor magnitud que el segundo grupo. BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

En línea con los resultados obtenidos a nivel de sensor, el efecto principal de la congruencia fue significativo en todas las bandas de frecuencia, observándose una mayor sincronización de theta y una mayor desincronización de alfa/beta durante la codificación y recuperación de las CC respecto a las CI. Este efecto mostró una diferente distribución topográfica en cada grupo en el rango de beta, tanto en la fase de codificación como en la de recuperación. Durante la codificación, la mayor desincronización de beta ante las CC se localizó en regiones del lóbulo temporal inferior en el grupo control, en áreas del lóbulo parietal, occipital y temporal medial en los DCLa  $\epsilon 4^-$  y en regiones prefrontales en los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Durante la recuperación, la distribución topográfica del efecto de la congruencia difirió ligeramente. Mientras que los controles mostraron una mayor disminución de beta en regiones parietales, los DCLa  $\epsilon 4^-$  lo hicieron en áreas temporo-parietales. Por el contrario, los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron una mayor desincronización de beta para las CC que para las CI en regiones del giro cingulado anterior y giro temporal inferior. Es importante destacar que aunque esta actividad EEG oscilatoria correlacionó con la memoria para las CC en cada uno de los grupos, en ningún caso se encontraron diferencias de grupo al comparar sus coeficientes de regresión. Con el objetivo de reducir la extensión y complejidad de este apartado, se ha decidido omitir la estadística asociada a estos contrastes. No obstante, la parte relacionada con la codificación puede encontrarse en Prieto del Val *et al.* (2015; Anexo I).

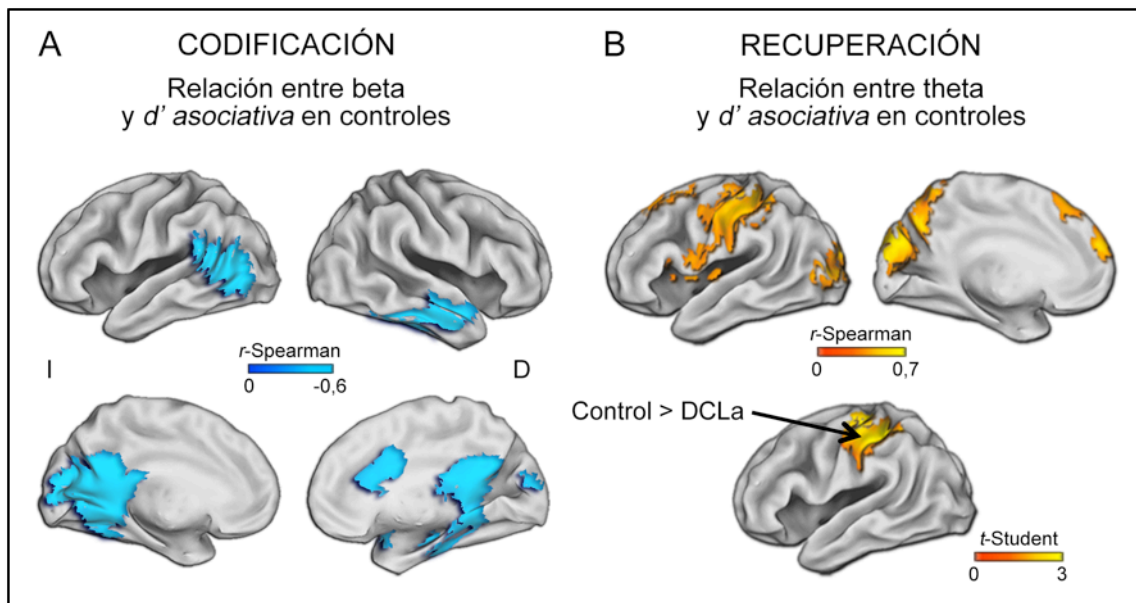
#### **4.2.3.2. Influencia del DCLa y del genotipo APOE4 sobre los correlatos EEG de la memoria**

Una parte importante de los cambios observados en las oscilaciones EEG a nivel de sensor contribuyó a explicar la varianza encontrada en los índices de memoria, concretamente en el índice denominado *d' asociativa* (Prieto del Val *et al.*, 2015; Prieto del Val *et al.*, en revisión). Dado que dichas correlaciones no supusieron la selección de ventanas espectro-temporales diferentes a las identificadas para los efectos de grupo y congruencia, nos limitaremos a informar los resultados obtenidos a nivel de fuentes en las diferentes frecuencias en las que se estimaron los generadores.

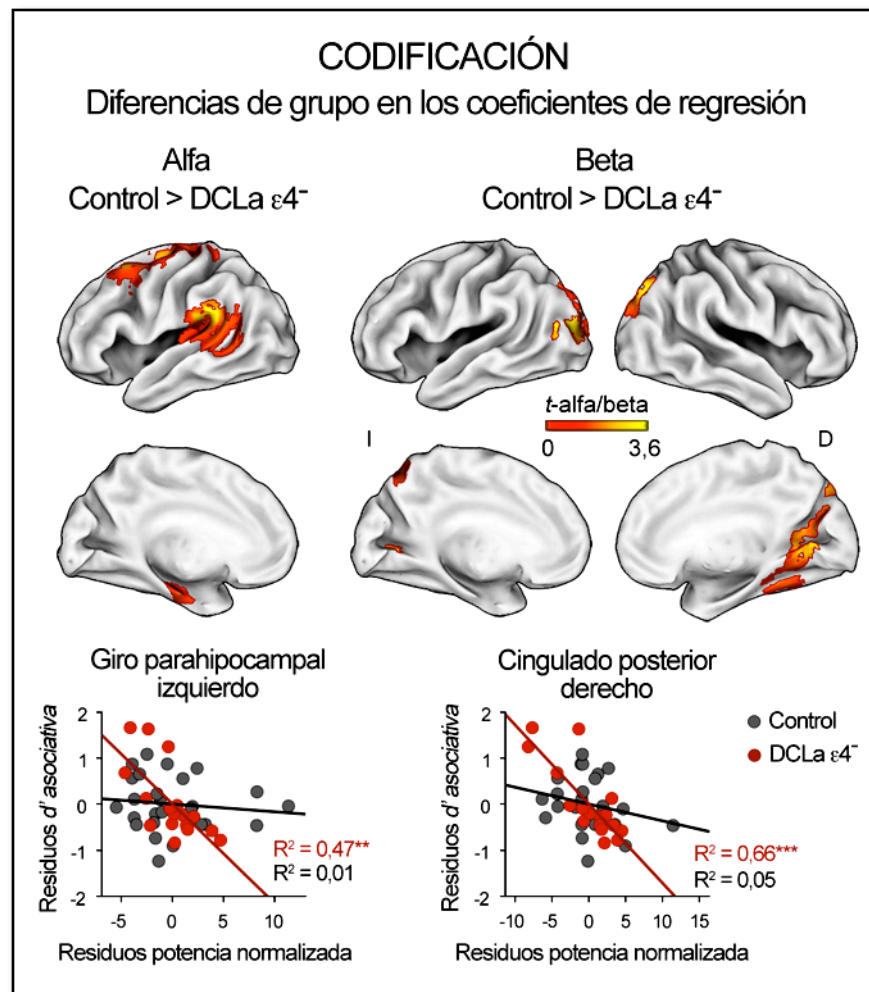


La **Figura 14** muestra las regiones corticales relevantes para la codificación y posterior recuperación en los controles. Durante la codificación, los controles mostraron correlaciones negativas significativas entre la desincronización en el rango de beta y la  $d'$  asociativa en áreas laterales y mediales temporo-parieto-occipitales de ambos hemisferios ( $p_{clusterFWE} = 0,02$ ) (**Figura 14A**). Sin embargo, no hubo diferencias de grupo al comparar los coeficientes de regresión. Durante la recuperación, la ejecución en la tarea de memoria en los controles correlacionó positivamente con los cambios de theta en regiones fronto-parieto-occipitales (**Figura 14B**). En este caso, sí se encontraron diferencias significativas al comparar los coeficientes de regresión con los DCLa ( $p_{cluster FWE} = 0,001$ ), concretamente en el lóbulo parietal posterior inferior (BA 40; coordenadas: [-35 -38 48];  $t_{fuente} = 3,0$ ; intervalo temporal = 44-720 ms;  $t_{tiempo} = 2,0-2,9$ ;  $p_{tiempo} = 0,003-0,02$ ) y en áreas postcentrales del hemisferio izquierdo (BA 2; coordenadas: [-50 -23 58];  $t_{fuente} = 2,8$ ; intervalo temporal = 44-1000 ms;  $t_{tiempo} = 2,2-3,3$ ;  $p_{tiempo} = 0,0004-0,01$ ).

Las **Figuras 15** y **16** muestran la distribución topográfica de las diferencias de grupo en los coeficientes de regresión resultantes de correlacionar los cambios en las oscilaciones EEG con la  $d'$  asociativa durante la codificación y recuperación, así como los gráficos de dispersión que ilustran las pendientes de regresión de cada grupo para un vóxel representativo en uno de los clústers significativos. Durante la codificación, la varianza en la memoria asociativa que mostraron los DCLa  $\epsilon_4$  se explicó en gran medida por la desincronización de alfa en regiones temporo-parietales y por la desincronización de beta en áreas parieto-occipitales, llegando a ser ambas asociaciones significativamente más fuertes que en los controles. Las regiones donde este contraste fue significativo se muestran en la **Tabla 7**.



**Figura 14. Correlatos EEG de la memoria asociativa en los controles.** **A)** Distribución topográfica de las correlaciones negativas entre la potencia de beta a nivel de fuentes generadoras y la  $d'$  asociativa durante la codificación en los controles (resultados corregidos por múltiples comparaciones). **B)** Distribución topográfica de las correlaciones negativas entre la potencia de theta a nivel de fuentes generadoras y la  $d'$  asociativa durante la codificación en los controles (resultados corregidos por múltiples comparaciones). En el panel inferior se muestra la distribución topográfica de las diferencias en los coeficientes de regresión al comparar los controles con los DCLa durante la recuperación. El color naranja indica que el grupo control mostró una correlación positiva entre la potencia de theta y la  $d'$  asociativa de mayor magnitud que los DCLa (resultados corregidos por múltiples comparaciones). I = izquierdo; D = derecho.



**Figura 15. Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ ) en los correlatos EEG de la memoria asociativa durante la codificación.** Panel superior. Distribución topográfica de las diferencias de grupo en los coeficientes de regresión a nivel de fuentes generadoras de alfa y beta durante la codificación (resultados corregidos por múltiples comparaciones). El color naranja indica que el grupo control mostró una correlación negativa entre la potencia de alfa/beta y la  $d'$  asociativa de mayor magnitud que los DCLa  $\epsilon 4^-$ . Para más información sobre este contraste ver Tabla 7. Panel inferior. Gráficos de dispersión para cada grupo (control y DCL  $\epsilon 4^-$ ) en el vóxel que mostró el estadístico máximo en uno de los clústers significativos obtenidos al evaluar la relación entre los residuos de la potencia normalizada de alfa (o beta) y los residuos de la  $d'$  asociativa una vez eliminados los efectos de la edad.  $**p < 0,005$ ;  $***p < 0,001$ . I = izquierdo; D = derecho.

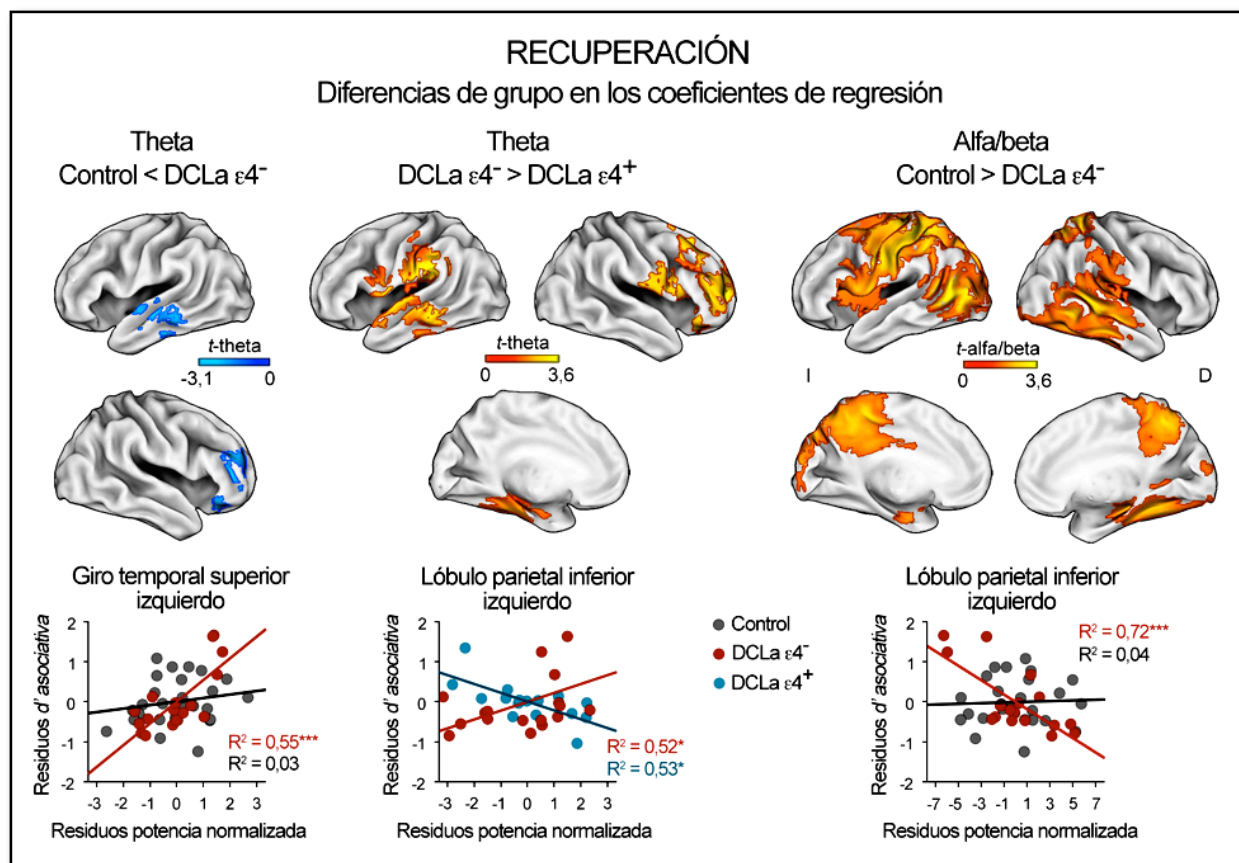
**Tabla 7.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCLa  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en los coeficientes de regresión resultantes de correlacionar la desincronización en alfa y beta durante la codificación con la  $d'$  asociativa.

Región cortical	BA	x	y	z	$t_{fuente}$	Tiempo (ms)	$t_{tiempo}$	$p$
<b>Alfa (desincronización)</b>								
<b>Control &lt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>								
$P_{cluster FWE} < 0,02$								
I Giro frontal superior	6	-15	17	68	4,2	304-980	5,0 / 2,4	0,0001-0,02
	9	0	62	23	1,9	884-1000	3,3 / 2,5	0,0005-0,006
I Giro frontal medio	6	-35	12	63	2,6	728-1000	2,7 / 2,4	0,003-0,008
I Giro precentral	4	-25	-18	63	2,5	52-1000	2,6 / 1,8	0,004-0,04
I Giro postcentral	3	-25	-23	68	2,5	156-1000	2,6 / 1,8	0,004-0,036
$P_{cluster FWE} < 0,01$								
I Giro supramarginal	40	-65	-43	33	3,0	572-1000	3,3 / 2,5	0,0005-0,006
I Giro parahippocampal	19/34	-40	-43	3	2,4	676-1000	2,4 / 2,1	0,008-0,01
<b>Beta (desincronización)</b>								
<b>Control &lt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>								
$P_{cluster FWE} < 0,001$								
I Cúneo	30/19	0	-73	13	3,2	364-1000	3,4 / 2,4	0,0004-0,002
I Giro angular	39	-45	-73	28	3,3	676-1000	3,1 / 2,5	0,0009-0,005
I Giro occipital medio	19	-30	-88	18	4,4	520-1000	2,7 / 2,3	0,003-0,01
D Giro cingulado posterior	30	5	-68	13	3,1	364-1000	3,4 / 2,3	0,0003-0,01
D Precúneo	7	30	-78	53	2,6	520-832	2,9 / 2,3	0,001-0,01
D Cúneo	19	30	-88	38	2,7	728-1000	3,1 / 2,9	0,0009-0,002

Nota: La relación entre la desincronización de alfa/beta y la  $d'$  asociativa no solo fue significativa en el grupo con DCLa  $\epsilon 4^-$  sino que además fue significativamente más fuerte que en el grupo control. BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

Durante la recuperación, los DCLa  $\epsilon 4^-$  mostraron una asociación más fuerte con la memoria que los controles en theta, alfa y beta. La memoria en este grupo se relacionó con incrementos de theta en regiones fronto-temporales, y con decrementos de alfa y beta en regiones parieto-temporales. Las distribuciones topográficas, aunque más extensas en beta (**Figura 16**), fueron similares en ambas frecuencias, por lo que nos referiremos a ellas como alfa/beta. Además, los DCLa  $\epsilon 4^-$  mostraron una asociación más fuerte que los DCLa  $\epsilon 4^+$  entre la potencia de theta y la

memoria en regiones parieto-temporales del hemisferio izquierdo y en regiones frontales del derecho. Los resultados se muestran en la **Figura 16** y en las **Tablas 8 y 9**.



**Figura 16.** Diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) en los correlatos EEG de la memoria asociativa durante la recuperación. Panel superior. Distribución topográfica de las diferencias de grupo en los coeficientes de regresión a nivel de fuentes generadoras de theta y alfa/beta durante la recuperación (resultados corregidos por múltiples comparaciones). El color azul indica que el grupo con DCLa  $\epsilon 4^-$  mostró una correlación positiva entre la potencia de theta y la  $d'$  asociativa de mayor magnitud que los controles. El color naranja puede reflejar una correlación positiva entre la potencia de theta y la  $d'$  asociativa de mayor magnitud en los DCLa  $\epsilon 4^-$  comparado con los DCLa  $\epsilon 4^+$  o una correlación negativa entre la potencia de alfa/beta y la  $d'$  asociativa de mayor magnitud en los DCLa  $\epsilon 4^-$  comparado con los controles. Para más información sobre estos contrastes ver Tablas 8 y 9. Panel inferior. Gráficos de dispersión para cada grupo en el vóxel que mostró el estadístico máximo en uno de los clúster significativos obtenidos al evaluar la relación entre los residuos de la potencia normalizada de theta o alfa/beta y los residuos de la  $d'$  asociativa una vez eliminados los efectos de la edad. \* $p < 0,01$ ; \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . I = izquierdo; D = derecho.

Es importante subrayar que los DCLa  $\epsilon 4^+$  también mostraron correlaciones entre la potencia de alfa/beta y la memoria de mayor magnitud que los controles con una distribución topográfica muy similar a la mostrada por los DCLa  $\epsilon 4^-$ . Sin embargo, a diferencia de este último grupo, la correlación no alcanzó la significación estadística en los DCLa  $\epsilon 4^+$ .

**Tabla 8.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) al correlacionar la sincronización de theta durante la recuperación con la  $d'$  asociativa.

Región cortical	BA	x	y	z	$t_{fuente}$	Tiempo (ms)	$t_{tiempo}$	$p$
<b>Control &lt; DCLa <math>\epsilon 4^-</math></b>								
$P_{cluster\ FWE} < 0,002$								
I Giro temporal superior	22	-65	-13	-2	-2,3	44-824	-2,5 / -2,1	0,007-0,01
I Giro temporal medio	21	-70	-38	3	-1,7	44-148	-2,8 / -2,3	0,002-0,009
$P_{cluster\ FWE} < 0,006$								
D Giro frontal medio	9	30	42	13	-3,1	252-460	-2,7 / -2,3	0,003-0,01
$P_{cluster\ FWE} < 0,05$								
D Giro frontal inferior	47	45	22	-12	-2,4	44-304	-3,3 / -2,7	0,004-0,003
<b>DCLa <math>\epsilon 4^- &gt; DCLa \epsilon 4^+</math></b>								
$P_{cluster\ FWE} < 0,02$								
I Giro precentral	43	-55	-8	13	2,8	876-980	2,2 / 2,2	0,013-0,015
I Ínsula	13	-50	-8	8	2,6	876-980	2,3 / 2,2	0,011-0,013
I Lóbulo parietal inferior	40	-55	-33	28	3,6	512-980	3,2 / 2,6	0,008-0,004
I Giro temporal medio	21	-70	-43	-12	3,2	252-512	2,3 / 2,0	0,011-0,025
I Giro temporal transverso	42	-65	-8	8	3,2	304-616	2,6 / 2,0	0,005-0,021
I Giro temporal superior	42	-70	-23	8	2,9	252-876	3,0 / 2,6	0,001-0,005
$P_{cluster\ FWE} < 0,03$								
D Giro frontal superior	9	45	52	23	2,8	252-512	2,3 / 2,0	0,011-0,025
D Giro frontal medio	6	35	22	58	2,7	356-616	2,3 / 2,1	0,009-0,016
D Giro precentral	6	55	-3	38	1,9	616-772	2,3 / 2,0	0,01-0,03
D Giro postcentral	40	65	-18	18	2,5	772-928	2,7 / 2,6	0,003-0,004

Nota: La relación entre la sincronización de theta durante la recuperación y la  $d'$  asociativa no solo fue significativa en el grupo con DCLa  $\epsilon 4^-$  sino que además fue significativamente más fuerte que en cualquiera de los otros dos grupos. BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

**Tabla 9.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (controles, DCL  $\epsilon 4^-$ , DCLa  $\epsilon 4^+$ ) al correlacionar la desincronización en alfa/beta durante la recuperación con la  $d'$  asociativa.

Región cortical	BA	x	y	z	$t_{fuente}$	Tiempo (ms)	$t_{tiempo}$	$p$
<b>Control &lt; DCLa <math>\epsilon 4^+</math></b>								
$P_{cluster\ FWE} < 0,009$								
I Giro frontal superior	6	-20	17	68	2,5	616-980	3,6 / 2,6	0,001-0,005
I Giro precentral	6	-45	-3	63	2,5	564-876	2,3 / 2,7	0,003-0,01
	4	-65	2	13	2,4	512-980	3,1 / 2,4	0,001-0,008
I Giro postcentral	2	-55	-18	38	2,9	616-980	2,9 / 2,4	0,001-0,008
	43	-60	-3	13	2,4	720-980	2,2 / 2,0	0,014-0,02
I Lóbulo parietal inferior	40	-40	-43	58	3,3	408-876	3,5 / 2,7	0,003
	2	-45	-23	43	2,7	720-876	2,7 / 2,5	0,003-0,006
I Precúneo	19	-25	-83	48	2,6	616-980	3,2 / 2,5	0,001-0,006
I Cúneo	19	-20	-88	43	2,7	616-980	3,1 / 2,7	0,001-0,004
I Giro occipital medio	37	-55	-73	8	3,1	668-928	3,3 / 2,6	0,001-0,004
I Giro temporal superior	22	-65	-53	13	2,2	96-980	3,1 / 2,5	0,001-0,006
I Giro temporal medio	21	-65	-58	8	2,4	44-512	3,7 / 2,7	0,001-0,003
	39	-60	-63	13	2,9	356-928	3,5 / 2,7	0,001-0,003
D Lóbulo parietal superior	7	20	-53	73	2,8	512-980	3,4 / 2,1	0,001-0,01
D Giro postcentral	7	25	-48	73	2,8	460-980	3,3 / 2,1	0,001-0,016
D Precúneo	7	20	-58	58	2,7	616-980	3,1 / 2,1	0,001-0,016

Nota: La relación entre la desincronización de alfa/beta y la  $d'$  asociativa no solo fue significativa en el grupo con DCLa  $\epsilon 4^+$  sino que además fue significativamente más fuerte que en el grupo control. BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

Los datos analizados hasta el momento ponen de manifiesto un déficit de la memoria visuoespacial en los DCLa  $\epsilon 4^+$ , que ni siquiera se ve atenuado por la congruencia semántica del contexto en el que se codificó dicha memoria. Lo más interesante es que ni los cambios cerebrales estructurales ni los funcionales observados en estos pacientes contribuyeron a explicar el déficit asociativo. De hecho, la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^+$  correlacionó con el volumen del hipocampo derecho, pero la magnitud de esta relación no fue significativamente diferente de la observada en los otros dos grupos.

Sin embargo, estos mismos análisis situaron a los DCLa  $\epsilon 4^-$  en un plano diferente al de los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Para empezar, la disminución de espesor cortical mostrada por los DCLa  $\epsilon 4^-$  respecto a los controles en áreas del lóbulo temporal medial y polo temporal derecho emergió como un predictor de la memoria capaz de distinguirlos de los controles, hecho que no ocurrió en los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Por otra parte, durante la recuperación, las oscilaciones theta del lóbulo temporal izquierdo y de áreas prefrontales derechas también fueron predictores de la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$ . De hecho, la relación entre estas oscilaciones y la memoria fue la única capaz de diferenciar a este grupo de los controles y de los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Por último, las oscilaciones alfa/beta asociadas a la codificación y posterior recuperación también explicaron una parte importante de la variabilidad observada en la memoria asociativa de los DCLa  $\epsilon 4^-$ . De nuevo, la relación entre estas oscilaciones y la memoria permitió distinguir a este grupo de los controles pero no de los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Todos estos resultados son coherentes con la hipótesis de partida según la cual solo los DCLa  $\epsilon 4^-$  serían capaces de reclutar recursos neurales adicionales para mantener niveles de ejecución en la tarea visuoespacial comparables a los controles. No obstante, para poder afirmar que las diferencias observadas en los correlatos funcionales de la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$  son un reflejo de la compensación neural, estos deberían modular (mediar) el impacto de la atrofia cerebral sobre la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$  y no hacerlo en los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Esta hipótesis fue evaluada en el presente trabajo mediante análisis de mediación. En concreto, nos centraremos en la fase de recuperación, porque fue donde únicamente se identificaron correlatos EEG de la memoria capaces de distinguir a los DCLa  $\epsilon 4^-$  tanto de los controles como de los DCLa  $\epsilon 4^+$ .

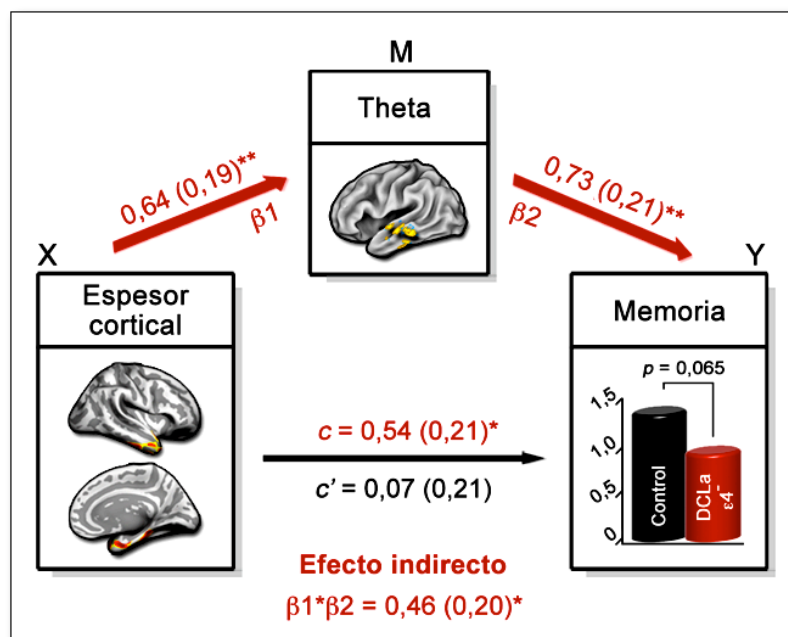
#### **4.2.4. Resultados derivados del análisis de mediación durante la recuperación**

En primer lugar, se evaluó de forma independiente en cada uno de los grupos si las regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (DCLa  $\epsilon 4^-$  > control y DCLa  $\epsilon 4^-$  > DCLa  $\epsilon 4^+$ ) al correlacionar la potencia de las oscilaciones theta con la *d'* asociativa actuaron como mediadores de la relación entre el espesor de la corteza temporal y la memoria asociativa. Dichos análisis se realizaron a nivel de vóxel sobre las regiones corticales (ver **Figura 16**,



panel izquierdo) que mostraron resultados significativos en el contraste anterior tras corregir por FWE (Wager *et al.*, 2008; <http://wagerlab.colorado.edu/tools>).

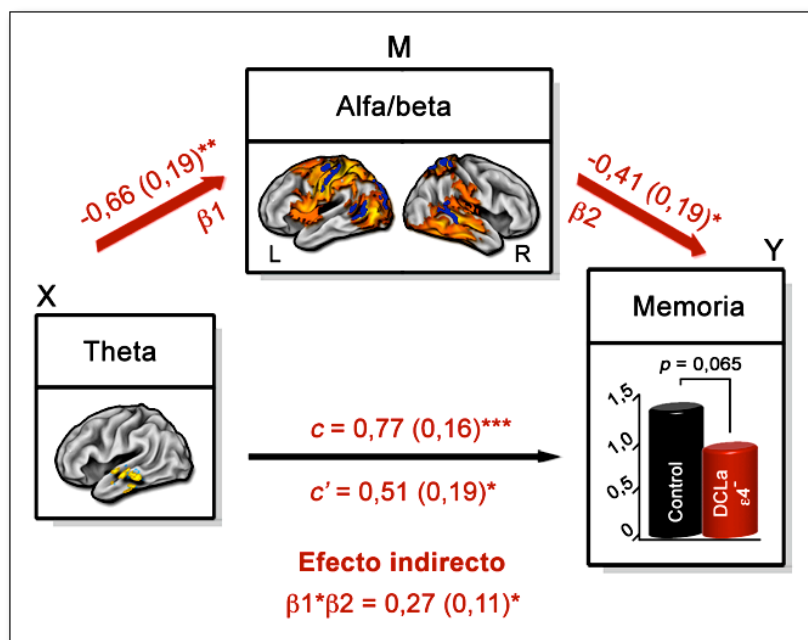
La **Figura 17** muestra las regiones corticales en las que el análisis de mediación fue significativo (zonas amarillas sobre fondo azul). Esta figura muestra para el vóxel que mostró el máximo efecto de mediación la siguiente información: i) los coeficientes estandarizados (y la desviación estándar) para los efectos directos de X sobre M y de M sobre Y tras haber ajustado el efecto de X; ii) los coeficientes correspondientes al efecto de la atrofia temporal sobre la memoria antes ( $c$ ) y después ( $c'$ ) de incluir la variable mediadora (M); y iii) el coeficiente correspondiente al efecto indirecto. Los niveles de sincronización de theta en regiones laterales del lóbulo temporal izquierdo emergieron como mediadores en los DCLa  $\epsilon 4$ .



**Figura 17. Papel mediador de las oscilaciones theta sobre la relación entre el espesor de la corteza temporal y la memoria en los DCLa  $\epsilon 4$ .** El modelo de mediación simple incluye las oscilaciones theta como mediador (M) de la relación existente entre la reducción de espesor cortical en el lóbulo temporal (X) y la  $d'$  asociativa en la prueba de memoria visuoespacial (Y). Se incluyen los coeficientes estandarizados y las desviaciones estándar para el efecto total de X sobre Y ( $c$ ), para cada efecto directo ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $c'$ ) y para el efecto indirecto ( $\beta_1 \beta_2$ ). Los efectos significativos se muestran en rojo y los no significativos en negro. \* $p < 0,01$  \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

La mediación pudo confirmarse porque además del efecto indirecto significativo ( $\beta_1 \cdot \beta_2$ : 95% intervalo de confianza (IC) = [0,1 0,9]), el resto de los coeficientes de regresión también alcanzaron la significación ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , y  $c$ ), lo que se tradujo en una atenuación del impacto de la atrofia temporal sobre la memoria (el coeficiente  $c'$  no solo disminuyó con respecto al coeficiente  $c$  sino que además dejó de ser significativo). La mediación no fue significativa ni en los controles ni en los DCLa  $\epsilon_4^+$ , ni tampoco en los DCLa  $\epsilon_4^-$  cuando la variable independiente se intercambi6 por la variable mediadora.

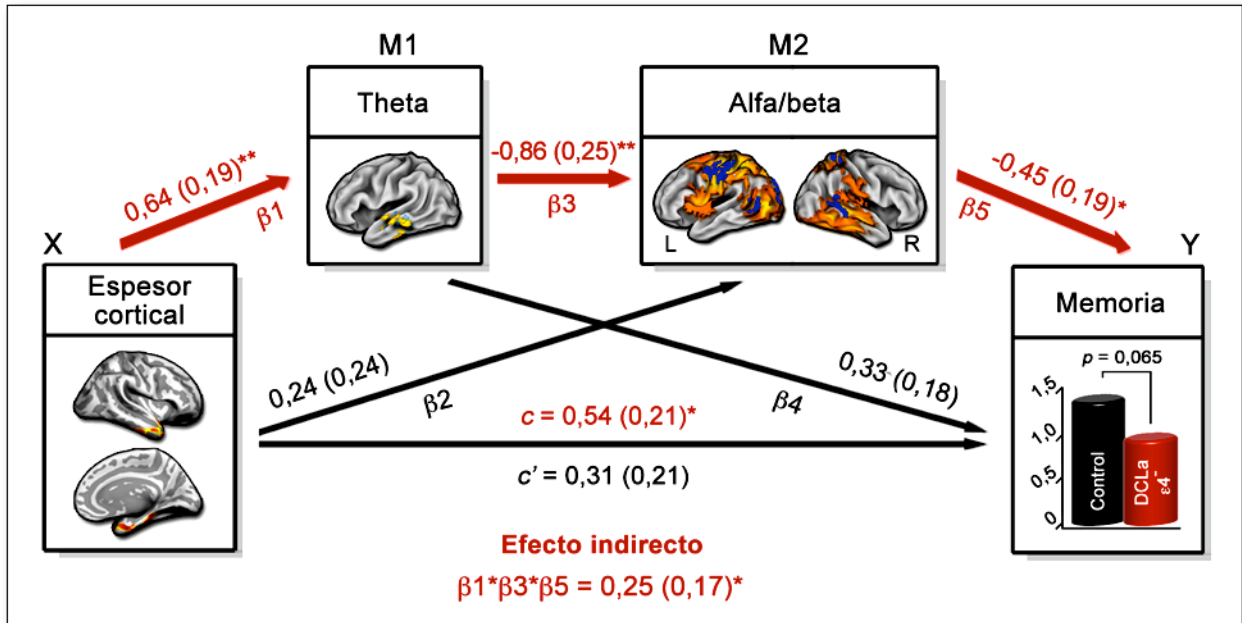
Como ya se coment6 antes, recientemente se ha propuesto que la sincronización de theta relacionada con la memoria podría reflejar la activación del hipocampo y regiones corticales adyacentes, mientras que la desincronización de alfa/beta sería un correlato de la activación neocortical (Hanslmayr *et al.*, 2016). En concreto, se ha especulado con la idea de que la sincronización de theta sería la responsable de coordinar la reactivación de la memoria en regiones neocorticales (*e.g.*, Düzel *et al.*, 2010; Nyhus & Curran, 2010) mediante la desincronización de alfa/beta (Hanslmayr *et al.*, 2012, 2016). En línea con esta hipótesis, nuestros resultados mostraron que el impacto de las oscilaciones theta sobre la memoria estaba mediado por las oscilaciones alfa/beta. Tal como aparece en la **Figura 18**, la mediación de las oscilaciones alfa/beta fue significativa en regiones parieto-temporales a nivel bilateral ( $\beta_1 \cdot \beta_2 \cdot \beta_3$ : 95% IC = [0,1 0,6]). En esta ocasión, el coeficiente  $c'$ , aunque menor que el coeficiente  $c$ , mantuvo su significación tras ajustar el efecto de M, por lo que solo es posible hablar de mediación parcial.



**Figura 18. Papel mediador de las oscilaciones alfa/beta sobre la relación entre la potencia de las oscilaciones theta y la memoria en los DCLa  $\epsilon 4$ .** El modelo de mediación simple incluye las oscilaciones alfa/beta como mediador (M) de la relación entre los cambios en la potencia de theta en el lóbulo temporal (X) y la  $d'$  asociativa en la prueba de memoria visuoespacial (Y). Se incluyen los coeficientes estandarizados y las desviaciones estándar para el efecto total de X sobre Y (c), para cada efecto directo ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $c'$ ) y para el efecto indirecto ( $\beta_1 \beta_2$ ). Todos los efectos fueron significativos, inclusive  $c'$ . \* $p < 0,01$  \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Dado que la relación entre el espesor cortical y la memoria estuvo mediada por las oscilaciones theta, y dado que el efecto de estas oscilaciones sobre la memoria estuvo mediado por las oscilaciones alfa/beta, nos planteamos evaluar si el impacto de la disminución de espesor cortical sobre la memoria estaba mediado por la relación secuencial existente entre los generadores de las oscilaciones theta y alfa/beta. El modelo de mediación secuencial incluyó como primer mediador el vóxel que mostró el máximo efecto indirecto en theta, y como segundo mediador las regiones que fueron incluidas en la mediación simple en alfa/beta. Como se ilustra en la **Figura 19**, el análisis reveló coeficientes de regresión significativos para: i) el efecto del espesor cortical sobre la potencia de las oscilaciones theta en regiones de la corteza temporal, ii) el efecto de las oscilaciones theta sobre la potencia de las oscilaciones alfa/beta en regiones parieto-temporales tras eliminar el efecto del espesor cortical, iii) el efecto de las

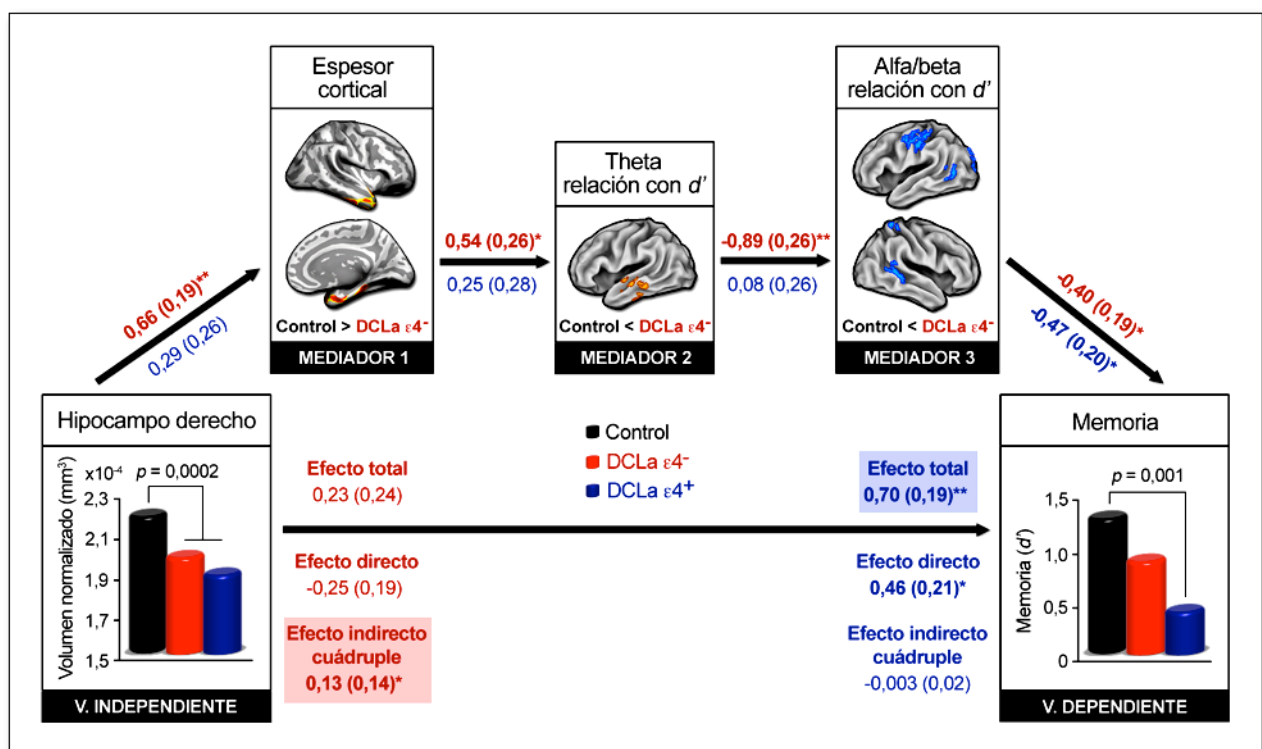
oscilaciones alfa/beta sobre la memoria tras eliminar los efectos del espesor cortical y de las oscilaciones theta, y iv) el efecto indirecto secuencial ( $\beta_1 * \beta_3 * \beta_5$ : 95% IC = [0,03 0,9]). Este último efecto dejó de ser significativo cuando se intercambió el orden de los mediadores, y no pudo replicarse ni en controles ni en DCLa  $\epsilon 4^+$ .



**Figura 19. Modelo de mediación secuencial doble.** El modelo incluye las oscilaciones theta como primer mediador (M1) y las oscilaciones alfa/beta como segundo mediador (M2) de la relación entre el espesor cortical en el lóbulo temporal (X) y la  $d'$  asociativa en la prueba de memoria visuoespacial (Y). Se incluyen los coeficientes estandarizados y las desviaciones estándar para el efecto total de X sobre Y (c), para cada efecto directo ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_4$ ,  $\beta_5$  y  $c'$ ) y para el efecto indirecto ( $\beta_1 * \beta_3 * \beta_5$ ). Los efectos significativos se muestran en rojo y los no significativos en negro.  $*p < 0,01$   $**p < 0,005$ ;  $***p < 0,001$ .

Por último, dado que el volumen del hipocampo correlacionó con las oscilaciones alfa en el grupo con DCLa  $\epsilon 4^+$ , y dado que los coeficientes de regresión no difirieron de los encontrados en los DCLa  $\epsilon 4^-$ , decidimos evaluar si la naturaleza de esta relación difería entre ambos grupos. Como se ilustra en la **Figura 20**, los resultados mostraron un efecto indirecto cuádruple significativo solo en los DCLa  $\epsilon 4^-$  (95% IC = [0,002 0,7]). Dicha figura también muestra los coeficientes obtenidos en los DCLa  $\epsilon 4^+$  con el objetivo de comparar las principales diferencias entre ambos grupos. Estos resultados sugieren que la naturaleza de la relación existente entre

el hipocampo y la memoria depende del genotipo *APOE4*. En el caso de los DCLa  $\epsilon 4^+$  la relación fue directa, como se deriva de los siguientes tres hechos: i) el efecto significativo de X sobre Y, ii) el efecto directo de X sobre Y que continuó siendo significativo tras ajustar la relación por los efectos de M1 y M2, y iii) el efecto indirecto secuencial, que no alcanzó la significación estadística. En el caso de los DCLa  $\epsilon 4^-$ , la relación entre el hipocampo y la memoria estuvo mediada por el grado de atrofia en otras regiones del lóbulo temporal, lo cual determinó a su vez la activación de diferentes áreas corticales a través de las oscilaciones theta y alfa/beta. Este hallazgo viene avalado por el hecho de que ni el efecto total ni el efecto directo de X sobre Y, tras ajustar por los dos mediadores, alcanzaron la significación estadística, mientras que el efecto indirecto cuádruple sí fue significativo.



**Figura 20. Modelo de mediación secuencial triple.** El modelo incluye la reducción de espesor cortical del lóbulo temporal como primer mediador (M1), las oscilaciones theta como segundo mediador (M2) y las oscilaciones alfa/beta como tercer mediador (M3) de la relación entre la atrofia del hipocampo (X) y la  $d'$  asociativa en la prueba de memoria visuoespacial (Y). Se incluyen los coeficientes estandarizados y las desviaciones estándar para el efecto total de X sobre Y, para los principales efectos directos y para el

efecto indirecto cuádruple. En rojo se muestran los coeficientes para el grupo con DCLa  $\epsilon 4^-$  y en azul para el grupo con DCLa  $\epsilon 4^+$ . Nótese que el efecto total de la atrofia del hipocampo sobre la memoria solo fue significativo en los DCLa  $\epsilon 4^+$  mientras que el efecto indirecto cuádruple solo alcanzó la significación estadística en los DCLa  $\epsilon 4^-$ . \* $p < 0,01$  \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

### 4.3. Evaluación de la capacidad de las oscilaciones EEG asociadas a la memoria asociativa para predecir la progresión de DCLa a EA

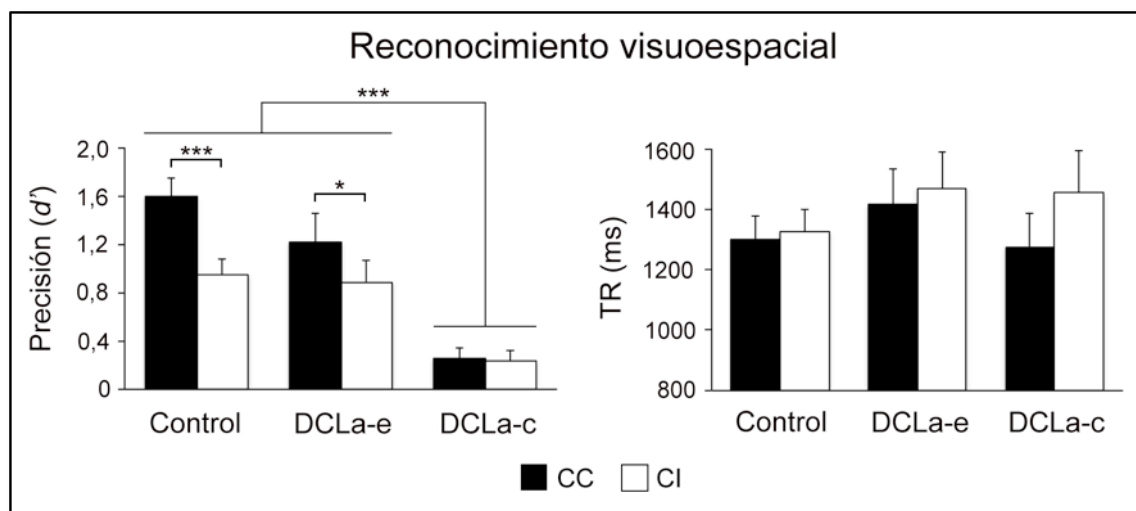
De los 34 pacientes con DCLa, 16 fueron diagnosticados con EA transcurridos 2 años (DCLa-c) mientras que el resto permanecieron estables (DCLa-e). A continuación se expondrán los resultados comportamentales derivados de la prueba de memoria visuoespacial y los resultados derivados de la RM y de las oscilaciones EEG en el momento del reclutamiento, cuando todos eran DCLa.

#### 4.3.1. Resultados comportamentales

La **Figura 21** muestra los resultados comportamentales de la prueba de memoria visuoespacial para cada uno de los grupos evaluados. El ANCOVA mostró un efecto principal del grupo ( $F_{2,56} = 10,8$ ;  $p = 0,0001$ ) debido a las peores puntuaciones obtenidas por los DCLa-c en comparación con los controles ( $p = 0,0001$ ) y los DCLa-e ( $p = 0,001$ ). Aunque el efecto principal de la congruencia no fue significativo ( $p > 0,8$ ), sí hubo efecto de interacción ( $F_{1,56} = 7,1$ ;  $p = 0,002$ ). Mientras que los controles ( $p = 4,8 \cdot 10^{-8}$ ) y los DCLa-e ( $p = 0,01$ ) recordaron mejor las CC que las CI, los DCLa-c fueron incapaces de beneficiarse de la congruencia durante la codificación. Ninguno de estos efectos fue significativo en lo que respecta a los TR.

Al contrario de lo que ocurrió en la prueba de reconocimiento visuoespacial, los DCLa-c mostraron el mismo nivel de ejecución que el resto de los grupos en la prueba de congruencia semántica. En la prueba de *priming* conceptual, los DCLa-c se beneficiaron de la congruencia al mismo nivel que el resto de grupos, tal como se deriva del efecto principal de la congruencia

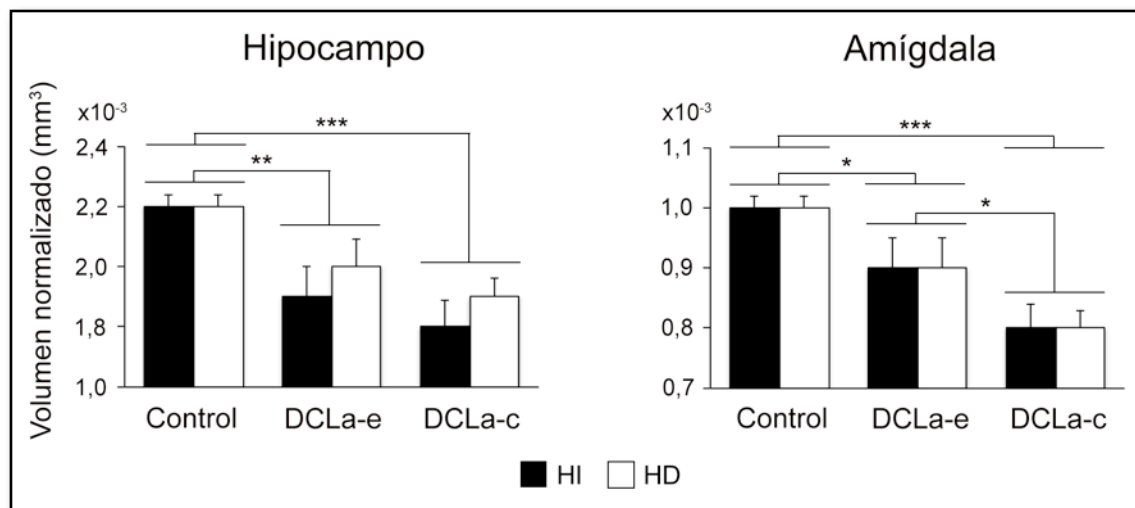
para la  $d'$  ( $F_{1,57} = 127,3; p < 10^{-15}$ ) y TR ( $F_{1,57} = 26,4; p < 10^{-5}$ ) y de la ausencia de efecto de interacción.



**Figura 21. Diferencias en los índices de memoria tras comparar DCLa-e y DCLa-c.** Medias y errores estándar de la media de la  $d'$  y de los TR para las caras congruentes (CC, barras negras) e incongruentes (CI, barras blancas) en cada uno de los grupos evaluados. \*\*\* $p < 0,001$ ; \* $p < 0,01$ .

#### 4.3.2. Resultados derivados de los descriptores estructurales de la RM cerebral

La **Figura 22** muestra las diferencias de grupo en el volumen normalizado del hipocampo y amígdala en cada hemisferio. El ANCOVA mostró un efecto principal del grupo para el hipocampo ( $F_{2,54} = 11,4; p = 7,5 \cdot 10^{-5}$ ) y la amígdala ( $F_{2,54} = 9,6; p = 2,8 \cdot 10^{-4}$ ). Los análisis *post hoc* confirmaron que el volumen de ambas estructuras fue significativamente mayor en los controles que en cualquiera de los subgrupos con DCLa ( $0,0001 < p < 0,05$ ). En el caso particular de la amígdala, los DCLa-e mostraron también un volumen mayor que los DCLa-c ( $p = 0,029$ ).



**Figura 22. Diferencias en el volumen de las estructuras del lóbulo temporal medial tras comparar DCLa-e y DCLa-c.** Medias y errores estándar de la media del volumen normalizado del hipocampo y la amígdala en el hemisferio izquierdo (HI, barras negras) y derecho (HD, barras blancas) en cada uno de los grupos. \*\*\* $p_{post-hoc} < 0,001$ ; \*\* $p_{post-hoc} < 0,01$ ; \* $p_{post-hoc} < 0,05$ .

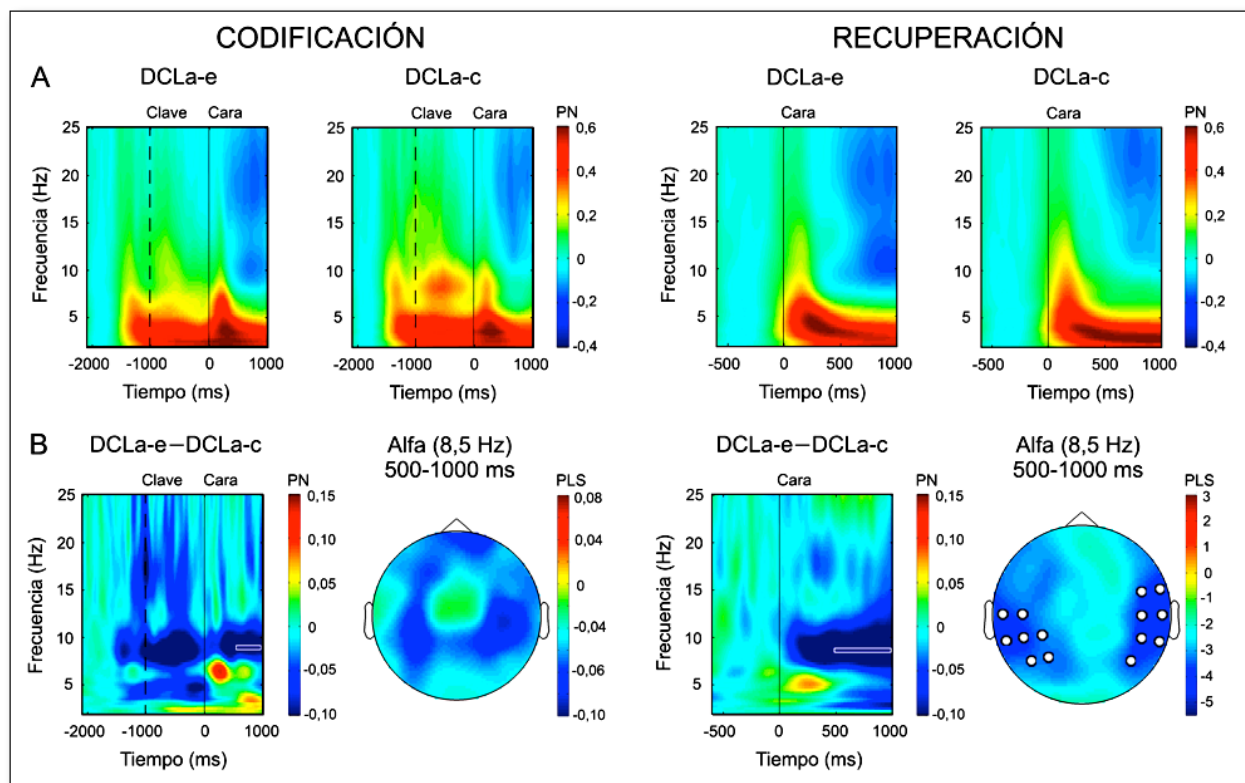
Los cambios observados en el volumen del hipocampo y la amígdala explicaron la variabilidad en el índice  $d'$  asociativa ( $0,44 < \beta < 0,51$ ;  $10^{-3} < p < 10^{-4}$ ). Cabe destacar que la significación estadística de esta relación desapareció tras eliminar de los análisis al grupo con DCLa-c. Este resultado sugiere que el impacto de la atrofia del lóbulo temporal medial sobre la memoria comienza a ser especialmente evidente cuando el daño alcanza un determinado umbral. No obstante, y quizás por el reducido tamaño de la muestra, la relación entre estas dos variables no llegó a ser significativa en ninguno de los grupos, ni siquiera en el grupo DCLa-c.

#### 4.3.3. Resultados derivados de los cambios en los correlatos EEG de la memoria asociativa

Uno de los principales objetivos del presente trabajo fue evaluar la capacidad de las oscilaciones EEG asociadas a la codificación y recuperación de la memoria asociativa para predecir la conversión a EA en pacientes con DCLa. Por tanto, se otorgará especial atención a las diferencias de grupo (DCLa-e  $\neq$  DCLa-c) que afectaron a las oscilaciones EEG registradas durante la prueba de congruencia semántica (codificación) y la prueba de reconocimiento



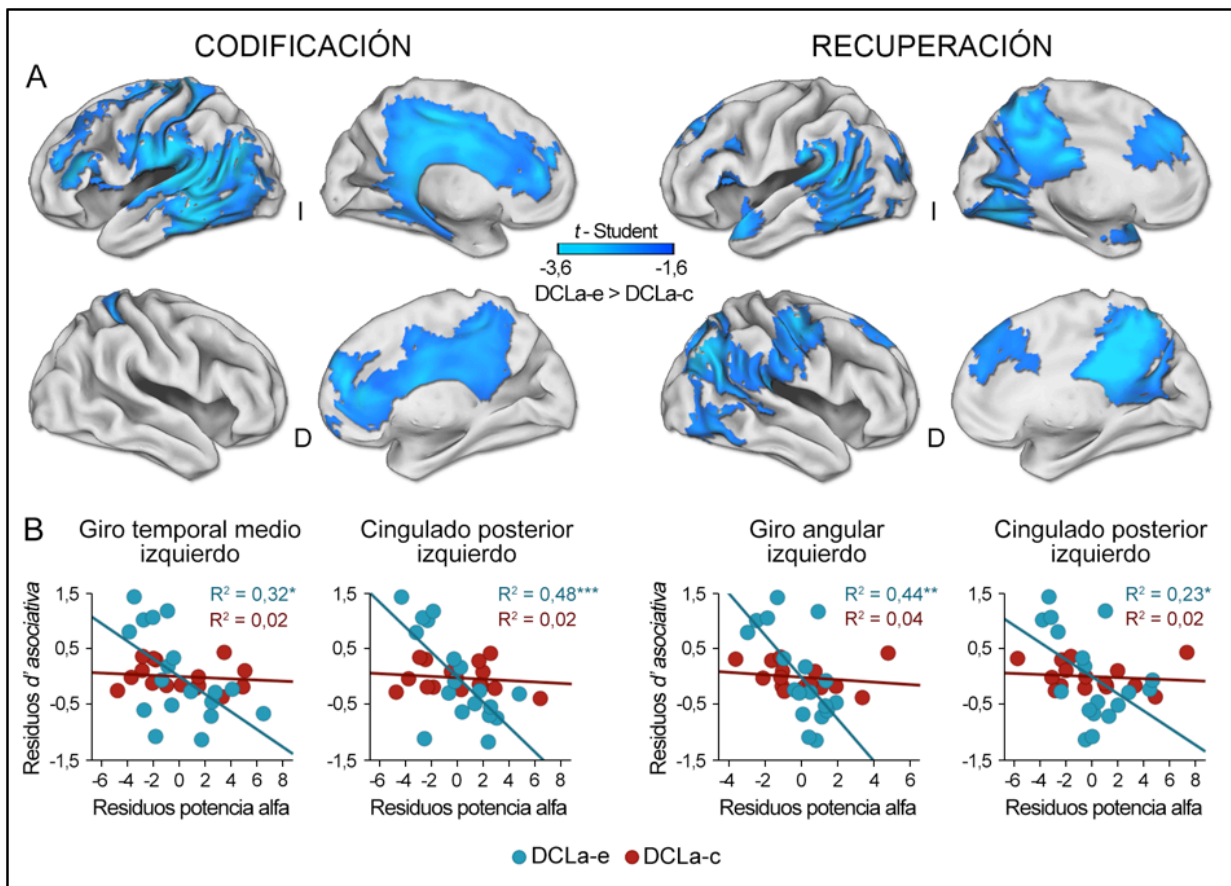
visuoespacial (recuperación) para los eventos que fueron correctamente recordados. Las comparaciones con respecto a los controles pueden consultarse en el artículo y Material suplementario incluidos en el Anexo II.



**Figura 23. Diferencias en las oscilaciones EEG a nivel de sensor tras comparar DCLa-e y DCLa-c.** **A)** Representación de la potencia normalizada (PN) en los dominios de tiempo y frecuencia promediada en todos los electrodos para cada uno de los grupos (DCLa-e y DCLa-c) durante la codificación y posterior recuperación. **B)** Representación de la PN en los dominios de tiempo y frecuencia promediada en todos los electrodos para las diferencias de grupo (DCLa-e – DCLa-c). Los electrodos que alcanzaron la significación estadística aparecen en los mapas topográficos que muestran la distribución espacial de la señal promediada en los intervalos espectro-temporales en los que se estimaron las fuentes generadoras de las oscilaciones EEG. Nótese que dichas diferencias solo fueron evidentes en la fase de recuperación.

La **Figura 23** muestra el curso temporal de las oscilaciones EEG durante la codificación y posterior recuperación para los grupos DCLa-e y DCLa-c. Aunque los DCLa-e mostraron mayor desincronización en el rango de alfa que los DCLa-c en ambas pruebas, las diferencias

significativas solo fueron evidentes durante la recuperación (8-12 Hz; 0-1000 ms;  $p = 0,04$ ). No obstante, como las diferencias respecto a la línea base alcanzaron la significación entre 500 y 1000 ms en 8,5 Hz durante la codificación y posterior recuperación, se decidió estimar las fuentes generadoras de las oscilaciones EEG en dicha ventana espectro-temporal en ambas fases.



**Figura 24. Diferencias en las oscilaciones alfa a nivel de generadores tras comparar DCLa-e y DCLa-c.** **A)** Distribución topográfica de las diferencias de grupo para las fuentes generadoras de alfa (estadísticos  $t$  corregidos por FWE). Para más información sobre este contraste ver Tabla 10. **B)** Gráficos de dispersión para cada grupo en el vóxel que mostró el estadístico máximo en uno de los clúster significativos derivados de los contrastes de grupo. Se representa la relación entre los residuos de la potencia normalizada de alfa y los residuos de la  $d'$  asociativa una vez eliminados los efectos de la edad. Para más información sobre este contraste ver Tabla 11. \* $p < 0,01$  \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . I = izquierdo; D = derecho.

**Tabla 10.** Regiones corticales que mostraron diferencias de grupo (DCLa-e, DCLa-c) en la desincronización de alfa durante la codificación y posterior recuperación.

Región cortical	BA	x	y	z	t	Tiempo (ms)	$T_{tiempo}$	p
<b>CODIFICACIÓN</b>								
<b>DCLa-e &gt; DCLa-c <math>P_{cluster FWE} &lt; 0,02</math></b>								
I Giro temporal superior	22	-55	-43	13	-3,6	208-980	-4,2 / -2,3	0,0002-0,03
I Giro temporal medio	20	-65	-48	-17	-3,6	0-980	-4,4 / -2,3	0,001-0,02
I Lóbulo parietal inferior	40	-65	-28	28	-3,5	208-980	-4,7 / -2,4	0-0,02
I Giro postcentral	5	-30	-33	73	-3,4	0-980	-4,3 / -2,3	0,0002-0,03
D Giro postcentral	7	15	-53	78	-2,3	624-884	-2,4 / -2,3	0,02
I Cingulado anterior	32	0	42	23	-3,3	468-980	-4,9 / -2,5	0-0,02
I Giro frontal medio	46	-50	32	18	-3,3	0-980	-4,5 / -2,1	0,0001-0,05
I Cingulado posterior	31	-10	-28	48	-3,2	0-980	-3,6 / -2,7	0,001-0,02
D Cingulado posterior	23	5	-13	28	-2,7	0-980	-3,6 / -2,9	0,001-0,006
I Giro precentral	4	-25	-23	58	-3,0	312-980	-3,5 / -2,2	0,002-0,04
D Giro frontal medial	9	10	47	28	-2,9	572-980	-4,9 / -2,6	0-0,02
I Giro frontal medial	10	0	72	-2	-2,7	572-980	-3,3 / -2,4	0,002-0,03
I Giro temporal transverso	42	-65	-13	8	-2,8	416-980	-3,2 / -2,3	0,003-0,03
I Lóbulo parietal superior	7	-20	-58	73	-2,2	520-980	-2,6 / -2,4	0,01-0,02
<b>RECUPERACIÓN</b>								
<b>DCLa-e &gt; DCLa-c <math>P_{cluster FWE} &lt; 0,03</math></b>								
I Giro temporal superior	22	-65	-48	23	-3,7	252-980	-4,88/-2,33	0-0,03
I Polo temporal	38	-55	7	-12	-3,0	356-980	-2,69/-2,21	0,01-0,03
D Precúneo	7/19	5	-48	38	-3,6	252-980	-3,88/-2,53	0,0005-0,02
D Giro postcentral	3	50	-18	38	-3,1	252-876	-4,43/-2,37	0,0001-0,03
D Giro temporal medio	39	35	-58	28	-3,0	408-980	-3,26/-2,57	0,002-0,02
I Giro temporal medio	21	-70	-48	-12	-2,5	460-980	-2,81/-2,38	0,008-0,02
D Lóbulo parietal superior	7	15	-68	68	-3,0	356-980	-3,48/-2,34	0,001-0,03
I Cingulado anterior	32	-10	32	43	-2,9	460-980	-3,19/-2,57	0,003-0,02
I Cúneo	18/19	-15	-93	33	-2,5	460-928	-2,54/-2,39	0,01-0,02
I Ínsula	13	-45	17	13	-2,2	512-772	-2,45/-2,39	0,01-0,02
I Giro frontal superior	8	-15	47	48	-2,8	564-980	-2,69/-2,65	0,01
D Giro frontal superior	6	25	42	53	-2,5	512-928	-2,56/-2,37	0,01-0,02
I Giro frontal medial	9	0	42	28	-2,5	668-876	-2,61/-2,58	0,01
D Lóbulo parietal inferior	40	65	-23	38	-2,7	356-980	-3,41/-2,23	0,001-0,04
D Giro occipital medio	19	55	-73	-7	-2,7	512-928	-3,39/-2,14	0,02-0,04
I Giro angular	39	-55	-63	38	-2,6	356-876	-3,88/-2,05	0,0005-0,02
D Giro supramarginal	40	65	-53	28	-2,3	408-980	-2,80/-2,30	0,009-0,02

Nota: BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

En línea con lo observado a nivel de sensor, los análisis realizados sobre las fuentes generadoras del EEG durante la codificación y posterior recuperación mostraron una disminución significativa de la desincronización de alfa en el grupo DCLa-c respecto al grupo DCLa-e en muchas regiones heteromodales de la corteza cerebral. Estos resultados se presentan en la **Figura 24A** y **Tabla 10**. La desincronización de alfa en regiones corticales posteriores mostró además una relación negativa con la memoria que únicamente alcanzó la significación en los DCLa-e. Estos resultados se muestran en la **Tabla 11** y en los gráficos de dispersión de la **Figura 23B**.

**Tabla 11.** Regiones corticales en las que los DCLa-e mostraron una relación significativa entre la desincronización de alfa y la  $d'$  asociativa durante la codificación y posterior recuperación.

Región cortical	BA	x	y	z	t	Tiempo (ms)	$T_{tiempo}$	$p$
<b>CODIFICACIÓN</b>								
<b>DCLa-e</b> $P_{cluster FWE} < 0,005$								
I Giro supramarginal	40	-60	-48	33	-0,7	468-988	-0,5 / -0,8	$10^{-4}$ -0,02
I Cingulado posterior	31	-20	-43	38	-0,6	676-988	-0,5 / -0,6	0,009-0,01
I Lóbulo parietal inferior	40	-65	-38	28	-0,6	520-988	-0,5 / -0,8	$10^{-4}$ -0,02
I Giro parahipocampal	28	-20	-13	-17	-0,6	572-988	-0,6 / -0,7	0,003-0,01
I Giro temporal medio	39	-40	-58	23	-0,5	676-936	-0,5 / -0,6	0,01-0,03
<b>RECUPERACIÓN</b>								
<b>DCLa-e</b> $P_{cluster FWE} < 0,03$								
D Precúneo	7	20	-63	53	-0,7	512-980	-0,6 / -0,8	$10^{-4}$ -0,01
I Giro temporal superior	22	-65	-48	23	-0,7	408-980	-0,6 / -0,8	$10^{-4}$ -0,01
D Giro temporal inferior	37	60	-48	-22	-0,7	512-980	-0,5 / -0,8	$10^{-4}$ -0,02
D Giro fusiforme	37	60	-63	-12	-0,7	460-980	-0,5 / -0,8	$10^{-4}$ -0,01
D Lóbulo parietal superior	7	25	-53	68	-0,6	408-980	-0,6 / -0,8	0,001-0,02
I Lóbulo parietal inferior	40	-65	-33	23	-0,6	304-980	-0,5 / -0,7	0,001
D Cúneo	19	25	-93	33	-0,6	564-980	-0,6 / -0,8	0,001-0,01

Nota: BA = área de Brodmann; I = izquierdo; D = derecho;  $t_{fuente}$  = estadístico  $t$  a nivel de fuentes generadoras;  $t_{tiempo}$  = rango de estadísticos  $t$  en el dominio del tiempo;  $p$  = rango de valores  $p$  en el dominio del tiempo tras corregir por múltiples comparaciones.

#### 4.3.4. Predicción de la conversión de DCLa a EA

Los análisis de regresión logística arrojaron resultados significativos para la amígdala derecha ( $\chi^2 = 9,2$ ;  $p = 0,01$ ) y para la sincronización de alfa en la corteza cingulada posterior izquierda durante la codificación (CCP, BA23 y BA31) ( $\chi^2 = 14,2$ ;  $p = 0,0002$ ) y en el cíneo/precúneo izquierdo durante la recuperación (BA17 y BA7) ( $\chi^2 = 11,4$ ;  $p = 0,001$ ). El modelo fue igualmente significativo cuando el volumen de la amígdala derecha se introdujo junto con las oscilaciones alfa en el cíngulo posterior durante la codificación ( $\chi^2 = 18,9$ ;  $p = 0,0003$ ) o junto con la misma actividad en el cíneo/precúneo durante la recuperación ( $\chi^2 = 15,9$ ;  $p = 0,001$ ). La **Tabla 12** muestra los resultados pertenecientes a cada uno de estos modelos individuales y combinados tras aplicar el procedimiento de validación cruzada y el test de permutaciones.

**Tabla 12.** Valores predictivos de cada clasificador para la progresión a EA.

Clasificador	AUC (95% IC)	ACC%	SE%	SP%
Amígdala	0,75 (0,52-0,89)*	77,5*	74,4	79,2
Alfa <sub>C</sub> en cíngulo posterior	0,80 (0,60-0,92)*	81,3*	58,3	92,6*
Alfa <sub>R</sub> en cíneo	0,77 (0,57-0,90)*	79,6*	75,4	86,0
<b>Amígdala + Alfa<sub>C</sub> en cíngulo posterior</b>	<b>0,82 (0,63-0,93)*</b>	<b>80,9*</b>	<b>77,7*</b>	<b>82,2*</b>
Amígdala + Alfa <sub>R</sub> en cíneo	0,78 (0,56-0,90)*	80,0*	63,6	86,1*

Nota: Alfa<sub>C</sub> = potencia de las oscilaciones alfa durante la codificación; Alfa<sub>R</sub> = potencia de las oscilaciones alfa durante la recuperación; AUC = área bajo la curva; IC = intervalo de confianza; ACC = precisión general; SE = sensibilidad; SP = especificidad.

El test de Friedman puso de manifiesto las diferencias significativas entre los distintos modelos para la precisión global ( $\chi^2 = 100,8$ ;  $p < 10^{-20}$ ), AUC ( $\chi^2 = 123,4$ ;  $p < 10^{-25}$ ), sensibilidad ( $\chi^2 = 75,3$ ;  $p < 10^{-14}$ ) y especificidad ( $\chi^2 = 76,5$ ;  $p < 10^{-15}$ ). La prueba de rangos con signos de Wilcoxon confirmó la existencia de diferencias significativas entre casi todos los modelos después de corregir por Bonferroni ( $p = 0,002$ ). Aunque el volumen de la amígdala no supuso un aumento significativo ni del área bajo la curva ni de la especificidad cuando se comparó con las oscilaciones alfa en el cíngulo posterior, la combinación de ambos marcadores mejoró significativamente la capacidad predictiva. De hecho, únicamente la contribución de las

oscilaciones alfa en el cíngulo posterior (67,7%) alcanzó la significación estadística (95% IC = [0,04 1690,8]) según el análisis de pesos relativos. En dicho modelo, la contribución de la amígdala no logró superar el 24%. Durante la recuperación, los resultados fueron similares. La amígdala explicó el 26,7% de la varianza en la predicción, mientras que la desincronización de alfa en el cíneo del hemisferio izquierdo mostró una contribución significativa del 61,1% (95% IC = [0,02 114,5]).

## ***5. DISCUSIÓN***

---





## 5. DISCUSIÓN

El funcionamiento de la corteza cerebral resulta de la cooperación jerárquica y heterárquica de numerosas poblaciones de neuronas. La comunicación efectiva entre estas regiones se realiza a través de complejos códigos neurales espacio-temporales que dan lugar a circuitos funcionales responsables de fenómenos tan complejos como la consciencia que tenemos de nosotros mismos o la capacidad para predecir las intenciones de los demás (Frith & Frith, 1999; Grèzes *et al.*, 2004). El estudio de los circuitos cerebrales que subyacen a la cognición, y por tanto, nuestro conocimiento acerca de cómo el cerebro crea la mente, ha experimentado un gran avance en las últimas décadas gracias a las técnicas de neuroimagen, entre las que también se incluyen el EEG y, su contrapartida electromagnética, la MEG (Lopes da Silva, 1991).

Los registros EEG/MEG son sensibles a las alteraciones de los mecanismos de sincronización neuronal que ocurren durante la progresión de la EA, incluso en las fases que preceden al diagnóstico clínico de esta condición neurodegenerativa (*e.g.*, Babiloni *et al.*, 2007; Cantero *et al.*, 2009a, 2009b; López *et al.*, 2014). El genotipo *APOE4* no hace sino acentuar dichos cambios (Cuesta *et al.*, 2015a, 2015b; González-Escamilla *et al.*, 2015) a la vez que acelerar tanto el deterioro cognitivo concomitante como la progresión hacia la EA (Xu *et al.*, 2013). Mientras que la mayoría de estos estudios han evaluado las alteraciones del EEG durante el estado de reposo cerebral en diferentes fases de la EA, el presente trabajo de Tesis ha evaluado si las alteraciones en las oscilaciones EEG presentes durante las fases prodrómicas de la EA están ligadas a determinados procesos de memoria, y si dichas asociaciones, además de verse afectadas por la presencia del *APOE4* son capaces de predecir la progresión hacia la EA.

El estudio ha arrojado dos resultados que merecen ser destacados. Por un lado, se ha observado que los pacientes con DCLa muestran alteraciones en las oscilaciones EEG en el

rango de theta, alfa y beta que, en ausencia del genotipo *APOE4*, condicionan el impacto que pueda tener la pérdida de volumen del hipocampo sobre la memoria. Y por otro, se ha encontrado que las oscilaciones alfa generadas en regiones parietales durante la codificación y posterior recuperación son buenos predictores de la conversión de DCLa a EA, sobre todo cuando se combinan con medidas de la integridad anatómica de estructuras del lóbulo temporal medial como la amígdala.

### **5.1. El déficit episódico en los DCLa $\epsilon 4^+$ se asocia con la atrofia del lóbulo temporal medial y con fallos en los mecanismos de compensación neural**

Los hallazgos del presente estudio vienen a confirmar resultados previos (Atienza *et al.*, 2011a). Los pacientes con DCLa  $\epsilon 4^+$  presentaron un deterioro significativo de la memoria asociativa imposible de contrarrestar mediante facilitación semántica durante la codificación. Aunque los cambios estructurales y funcionales de la corteza cerebral explicaron parcialmente la variabilidad observada durante la recuperación, únicamente los correlatos cerebrales del componente episódico, pero no del componente semántico, permitieron distinguir a los diferentes grupos. En particular, se observó que portar el genotipo *APOE4* en las fases prodrómicas de la EA es determinante para entender la naturaleza de la relación entre la atrofia del hipocampo y el deterioro cognitivo subyacente. Mientras que la reducción de volumen del hipocampo en los DCLa  $\epsilon 4^+$  incidió directamente sobre la memoria episódica, en los DCLa  $\epsilon 4^-$  dicho impacto estuvo mediado por cambios estructurales y funcionales en áreas heteromodales de la corteza, principalmente en los lóbulos temporales y parietales. De hecho, solo los DCLa  $\epsilon 4^-$  mostraron una mejora en la ejecución de la tarea de memoria asociada a los patrones de activación en áreas temporo-parietales reflejados por variaciones en la potencia espectral de theta y alfa/beta. La fuerza de esta asociación no solo fue significativamente mayor en los DCLa  $\epsilon 4^-$  que en las personas mayores del grupo control, sino que además estuvo condicionada en gran medida por la pérdida de integridad anatómica del lóbulo temporal.

### 5.1.1. La facilitación semántica durante la codificación no contrarresta el déficit episódico en los DCLa $\epsilon 4^+$

Un hecho intuitivo, a la vez que ampliamente estudiado, es que cuando se presentan dos elementos semánticamente relacionados, e.g., “LECHUGA” y “CEBOLLA”, el recuerdo de la asociación se vuelve más robusto y resistente al paso del tiempo (Shulman, 1974). Esta facilitación (“*priming*”) también ocurre con elementos no relacionados siempre que el contexto sea semánticamente congruente con alguno de ellos (Atienza *et al.*, 2011b; Staresina *et al.*, 2009). Recientemente, se ha sugerido que la facilitación semántica podría contribuir a acelerar la integración de la información con memorias pre-existentes (Packard *et al.*, 2017). Los resultados derivados del presente trabajo demuestran que los DCLa  $\epsilon 4^+$  no se benefician de la facilitación semántica durante la codificación, lo que contribuye a agravar el deterioro de la memoria asociativa que caracteriza a estos individuos.

Aunque se desconocen los procesos afectados, el genotipo *APOE4* podría incidir de manera selectiva sobre el almacenamiento del conocimiento semántico y/o el acceso a dicho conocimiento. De hecho, el deterioro semántico viene determinado no sólo por el tipo de conocimiento que se evalúa sino también por la forma en la que se evalúa. Por ejemplo, en los experimentos previos realizados a tal efecto es habitual que los pacientes con DCLa deban proporcionar información biográfica sobre las personas famosas de forma verbal (Ahmed *et al.*, 2008; Barbeau *et al.*, 2012; Estévez-González *et al.*, 2004; Joubert *et al.*, 2010). Sin embargo, en el presente estudio los participantes solo debían indicar si reconocían la relación existente entre la clave biográfica y el personaje famoso (fase de estudio), si la cara se correspondía o no con un personaje famoso (*priming* conceptual), y si la cara había aparecido en una localización particular o no (fase de memoria, reconocimiento visuoespacial). El hecho de que los tres grupos (*i.e.*, controles, DCLa  $\epsilon 4^-$  y DCLa  $\epsilon 4^+$ ) mostraran niveles de ejecución estadísticamente similares en la fase de estudio y en la tarea de *priming* conceptual sugiere que tanto el conocimiento semántico como la capacidad para acceder al mismo de manera

automática están preservados en los DCLa, independientemente de si son o no portadores del genotipo *APOE4*.

Las diferencias entre los diferentes grupos solo fueron evidentes en la prueba de reconocimiento visuoespacial. En concreto, los DCLa  $\epsilon 4^+$  presentaron más dificultades que los controles para identificar si un personaje famoso había aparecido o no en una localización cuando éste se codificó en condiciones de congruencia semántica. Por lo tanto, aunque los DCLa  $\epsilon 4^+$  puedan acceder al conocimiento semántico de forma automática, podrían tener dificultades para elaborar nuevas asociaciones a partir de este conocimiento durante la codificación. De hecho, la capacidad para generar de forma espontánea estrategias cognitivas que contribuyan a una mejor codificación está significativamente afectada en las fases prodrómicas de la EA (Balardin *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2007). Esta anomalía no es de extrañar si tenemos en cuenta que las estrategias cognitivas dependen en gran medida de las funciones ejecutivas (Taconnat *et al.*, 2006), las cuales también están afectadas en pacientes con DCL (Clément *et al.*, 2013), especialmente si son portadores del genotipo *APOE4* (Seo *et al.*, 2016).

Los DCLa  $\epsilon 4^+$  también mostraron una menor desincronización en el rango de beta durante la codificación. En concreto presentaron una hipoactivación en regiones frontales implicadas en funciones ejecutivas (Levy & Wagner, 2011) así como en en áreas temporales y parieto-occipitales esenciales para la representación del conocimiento semántico (Binder & Desai, 2011; Binder *et al.*, 2009; Patterson *et al.*, 2007). De hecho, fue en estas últimas regiones donde se observó un incremento de activación (indexado por un mayor nivel de desincronización en beta) durante el procesamiento de las caras congruentes en aquellos grupos que se beneficiaron de la congruencia semántica (*i.e.*, controles y DCLa  $\epsilon 4^-$ ). A pesar de estas observaciones, no fue posible diferenciar a un grupo de otro en base a los correlatos neurales del beneficio de la congruencia semántica, lo cual podría deberse al reducido tamaño de la muestra y/o a la intrínseca heterogeneidad de la misma (*i.e.*, controles con patología subyacente a la EA y/o DCLa  $\epsilon 4^-$  que no terminen desarrollando la EA). Aún así, el presente

estudio subraya la importancia de evaluar los componentes episódicos y semánticos de la memoria asociativa de manera integrada. Si nuestros resultados se confirmaran en futuros experimentos, sería importante incluir pruebas neuropsicológicas que permitieran evaluar ambos componentes de la memoria para corroborar el diagnóstico del DCLa, además de considerar su inclusión en el diseño de programas de entrenamiento cognitivo personalizados y adaptados a cada genotipo.

### **5.1.2. Las alteraciones en las oscilaciones EEG inducidas por la patofisiología asociada al DCLa en relación con la memoria están condicionadas por el genotipo APOE4**

Los daños sinápticos en el hipocampo y la neocorteza constituyen uno de los eventos que mejor explican el deterioro cognitivo durante los estadios más incipientes de la EA (revisado en Arendt, 2009). De hecho, la progresión de la pérdida sináptica sigue el mismo patrón regional que la degeneración neurofibrilar (Braak & Braak, 1991). Aunque la relación entre pérdida sináptica y la formación de placas seniles no es tan consistente, la comunicación neuronal se ve profundamente afectada por la presencia de las formas oligoméricas solubles de A $\beta$  (revisado en Palop & Mucke, 2010). Estos oligómeros son 2,7 veces más frecuentes en los pacientes con EA homocigotos para el alelo  $\epsilon$ 4 que en los homocigotos para el alelo  $\epsilon$ 3 aún cuando no haya diferencias en el número de placas, confirmando que el genotipo APOE4 exacerba la producción de oligómeros solubles de A $\beta$  (Hashimoto *et al.*, 2012). Algunos autores han sugerido que las disfunciones sinápticas de las interneuronas inhibitorias causadas por estos oligómeros podrían llegar a desestabilizar el patrón de comunicación neuronal promoviendo una hiperexcitabilidad neuronal (Palop & Mucke, 2010), lo que explicaría que el aumento de la potencia de theta en los DCLa  $\epsilon$ 4<sup>+</sup> no se tradujera en una mejora en los índices de memoria, hecho que sí ocurrió en los otros dos grupos.

Las oscilaciones EEG son el reflejo de diferentes códigos neurales que favorecen la selección de determinados inputs, la plasticidad sináptica y la estabilización de la información en circuitos corticales, debido fundamentalmente a la coordinación espacio-temporal entre diferentes

asambleas de neuronas (Buzsáki & Draguhn, 2004). En línea con esta idea, estudios previos han puesto de manifiesto que tanto la sincronización neural en los rangos de theta y gamma como la desincronización en los rangos de alfa/beta son mecanismos neurales que subyacen a los procesos de formación y recuperación de la memoria (e.g., Klimesch *et al.*, 1996; Nyhus & Curran, 2010; Sederberg *et al.*, 2006). El hecho de que la sincronización EEG sea un correlato neural de la formación de la memoria es coherente con la formulación magistral de Donald Hebb de que “las neuronas que disparan juntas, permanecerán conectadas” (Morris, 1999), por lo que su interpretación no genera demasiado conflicto. Sin embargo, que la desincronización EEG también favorezca la formación de la memoria parece a priori contradictorio y difícil de interpretar. Una de las propuestas teóricas recientes basada en el concepto de entropía –en nuestro contexto, la entropía hace referencia a la cantidad de información contenida en ciertas frecuencias– postula que la respuesta asincrónica de diferentes poblaciones neuronales permitiría codificar mayor cantidad de información que la respuesta poblacional sincrónica, que es en esencia predecible y redundante (Hanslmayr *et al.*, 2012, 2016). Como los eventos de la memoria episódica son por definición singulares, lo lógico sería que cada evento de nuestras vidas fuera registrado mediante un ‘código’ único. Así, la localización espacial y las características perceptuales de cada una de las personas famosas incluidas en la tarea estarían representadas por un patrón neural concreto gracias al aumento de la desincronización en alfa/beta. La menor desincronización observada en los DCLa  $\epsilon 4^+$  reflejaría precisamente una pérdida de esta capacidad para codificar la singularidad de cada evento episódico. Esta hipótesis se ve además reforzada por el hecho de que las alteraciones en las oscilaciones alfa/beta que muestran estos pacientes se extendieron a regiones temporo-occipitales, conocidas por participar de manera destacada en la identificación de los elementos perceptivos (Allison *et al.*, 1999) y espaciales del evento episódico (Nunn *et al.*, 1999).

### **5.1.3. El genotipo APOE4 limita la capacidad para activar mecanismos compensatorios en pacientes con DCLa**

Cuando el cerebro se ve expuesto a un desafío, como ocurre durante el envejecimiento y/o las fases tempranas de la EA, el desempeño cognitivo se vuelve más dependiente de la reserva neural, es decir, de recursos neuronales que, aún cuando están disponibles, no se usan habitualmente para ese fin. Estos recursos tratarían de compensar las discrepancias que puedan producirse entre las demandas de procesamiento y la respuesta comportamental ante dichas demandas como resultado de la patología cerebral (e.g., Barulli & Stern, 2013). Aunque la compensación neural es viable en cualquier momento de la vida, ésta juega un papel especialmente relevante en el envejecimiento. No obstante, si la patología subyacente supera un determinado umbral (Dennis & Cabeza, 2013; Dickerson *et al.*, 2005) y/o se daña gravemente poblaciones de neuronas absolutamente necesarias para cumplir una función determinada (Price & Friston, 2002; Tononi *et al.*, 1999), la reorganización funcional deja de ser efectiva y, por tanto, no es capaz de compensar el deterioro cognitivo asociado al daño cerebral.

Tanto en el envejecimiento normal como en la EA, el daño cerebral puede afectar a la eficiencia y capacidad de procesamiento (Prvulovic *et al.*, 2005). En el caso que solo se viera afectada la eficiencia de procesamiento, sería posible reclutar más neuronas en una misma región para cumplir con éxito la misma función, lo cual se traduciría en un aumento de la activación local. Sin embargo, si el daño neural subyacente afectara además a la capacidad de procesamiento, las demandas cognitivas solo podrían afrontarse reclutando poblaciones de neuronas que no se hayan visto afectadas por ese daño. En este caso, es habitual observar un decremento de activación en la región afectada por el daño además de un incremento de activación en otras áreas del cerebro que se mantienen más o menos intactas. Ello explicaría que diferentes estudios de neuroimagen realizados con DCL hayan mostrado tanto aumentos (Celone *et al.*, 2006; Clément & Belleville, 2010, 2012; Dickerson *et al.*, 2004, 2005; Hämäläinen *et al.*, 2007; Kircher *et al.*, 2007; Woodard *et al.*, 2009) como decrementos de

activación (Johnson *et al.*, 2004, 2006; Machulda *et al.*, 2003; Petrella *et al.*, 2006; Ries *et al.*, 2006) en regiones cerebrales típicamente afectadas por la EA que, sin embargo, son determinantes para realizar determinadas tareas cognitivas. Mientras que el aumento de activación reflejaría una merma en la eficiencia del procesamiento, la disminución pondría de manifiesto una afectación en la capacidad de procesamiento.

Sin embargo, para hablar de compensación efectiva, tanto en el envejecimiento normal (Dennis & Cabeza, 2013) como en el DCL (Scheller *et al.*, 2014), los cambios en los niveles de activación, ya sean locales o distribuidos, deberían tener un correlato comportamental capaz de cubrir las demandas de procesamiento. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios que han mostrado cambios en los niveles de activación regional en el DCL no han evaluado si estos cambios correlacionan con los niveles de ejecución en la tarea (Celone *et al.*, 2006; Clément & Belleville, 2010, 2012; Mandzia *et al.*, 2007; Woodward *et al.*, 2009), y si lo han hecho no han encontrado evidencias de dicha relación (Dickerson *et al.*, 2005). En este último caso, se considera compensación tentativa pero no efectiva (Dennis & Cabeza, 2013; Scheller *et al.*, 2014).

En el presente estudio, los DCLa  $\epsilon 4^-$  no mostraron incrementos de activación cortical respecto a los controles en ninguna banda de frecuencia. Sin embargo, los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron una asociación más fuerte que los controles entre la memoria y la potencia de las oscilaciones alfa/beta durante la codificación y posterior recuperación de la memoria, que afectó sobre todo a áreas de asociación perceptivas unimodales y heteromodales. En concreto se vio que el reconocimiento visuoespacial de los DCLa  $\epsilon 4^-$  mejoró cuanto menor fue la potencia de alfa/beta en esas regiones (*i.e.*, cuanto mayor fue el nivel de activación). Durante la recuperación, los DCLa  $\epsilon 4^-$  también mostraron una correlación más fuerte entre la memoria asociativa y la potencia de las oscilaciones theta en regiones heteromodales del lóbulo temporal y frontal, no solo al compararlos con los controles sino también con los DCLa  $\epsilon 4^+$ .

La interpretación de estos resultados requiere prestar atención a la distribución topográfica de los correlatos de la memoria, sobre todo durante la recuperación, tanto en el grupo control



(Figura 13B) como en los DCLa  $\epsilon 4^-$  (Figura 15). Para empezar, ambos grupos mostraron similitudes en los patrones de activación regional que se relacionaron con la memoria. La principal diferencia radicó en la banda de frecuencia responsable del reclutamiento, theta en el caso de los controles y alfa/beta en el caso de los DCLa. Dado que las demandas metabólicas de las oscilaciones rápidas son mayores que la de las oscilaciones más lentas (Lord *et al.*, 2013), los resultados indican que el cumplimiento de las demandas cognitivas en los DCLa  $\epsilon 4^-$  se ha realizado a costa de una disminución en la eficiencia de procesamiento. Sin embargo, los DCLa  $\epsilon 4^-$  también reclutaron áreas más amplias de la corteza para realizar adecuadamente la tarea de memoria, lo cual podría significar una merma en la capacidad de procesamiento (Prvulovic *et al.*, 2005). En este caso, se esperaría que los DCLa  $\epsilon 4^-$  mostraran un déficit funcional en las regiones activadas por los controles durante la fase de memoria. En línea con esta hipótesis, los DCLa  $\epsilon 4^-$  presentaron una disminución de potencia en el rango de theta en el lóbulo parietal inferior izquierdo, una de las regiones que contribuyeron en mayor medida a explicar el mejor rendimiento de los controles respecto a los DCLa (Figura 13B).

Tal como comentamos anteriormente, para referirnos a una compensación neural efectiva es muy importante que no existan diferencias significativas en la ejecución de la tarea entre el grupo que supuestamente está utilizando los mecanismos compensatorios y el grupo control (Friston & Price, 2003; Price & Friston, 1999). En el presente estudio, los DCLa  $\epsilon 4^-$  aunque mostraron una peor ejecución en la tarea de memoria que los controles, no llegaron a diferir significativamente. Solo los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron niveles de ejecución en la tarea de memoria significativamente más bajos que los controles, especialmente en relación con los ensayos congruentes. Cabe destacar que este grupo también mostró una correlación positiva entre la memoria para las caras congruentes y la potencia de beta en regiones frontales durante la codificación. Sin embargo, esta relación no permitió distinguir a este grupo de los controles. No obstante, estas no son las regiones que utilizaron los controles durante la codificación de las caras congruentes, por lo que el resultado sería una evidencia del reclutamiento de vías alternativas a las utilizadas por los controles, probablemente debido a una merma en la capacidad de procesamiento por parte de los DCLa  $\epsilon 4^+$ .

Efectivamente, las regiones temporales utilizadas por los controles durante la codificación exitosa de las caras congruentes mostraron una menor desincronización en el rango de beta y, por tanto, un menor nivel de activación en los DCLa  $\epsilon 4^+$ . Aún así, no es posible interpretar esta relación en términos de mecanismo compensatorio efectivo. No solo porque hubo diferencias significativas en la ejecución de la tarea al comparar con los controles, sino porque los DCLa  $\epsilon 4^+$  ni siquiera fueron capaces de beneficiarse de la congruencia semántica durante la tarea de memoria visuoespacial. Por lo tanto, no se cumple una de las premisas básicas propuestas por Price & Friston (2002) para poder afirmar que los DCLa  $\epsilon 4^+$  están utilizando mecanismos compensatorios efectivos. Más bien, podría tratarse de un mecanismo compensatorio tentativo. No obstante, para confirmar esta interpretación sería necesario demostrar que la correlación entre las oscilaciones beta en regiones frontales y la memoria se va debilitando a medida que aumentan las demandas de la tarea y que disminuye la integridad cerebral estructural y funcional (Dennis & Cabeza, 2013).

En resumen, nuestros resultados sugieren que los DCLa  $\epsilon 4^-$  afrontan adecuadamente las demandas de la tarea de memoria porque son capaces de reclutar mecanismos compensatorios efectivos, a costa de perder eficiencia y capacidad de procesamiento. Sin embargo, la compensación neural debería estar íntimamente relacionada con el nivel de integridad cerebral. Se esperaría que la capacidad para reclutar mecanismos compensatorios fuera disminuyendo a medida que avanza la neuropatología subyacente a la EA. Por lo tanto, para afirmar que la relación encontrada entre la memoria y las oscilaciones theta y alfa/beta son un verdadero reflejo de compensación neural, dichos mecanismos compensatorios deberían actuar como mediadores de la relación entre la atrofia cerebral y la memoria. Este aspecto se discutirá en el siguiente apartado.

#### **5.1.4. El genotipo APOE4 condiciona la relación entre el volumen del hipocampo y la memoria episódica en pacientes con DCLa**

De acuerdo con estudios previos (e.g., Horínek *et al.*, 2007; Klein-Koerkamp *et al.*, 2014; Nickl-Jockschat *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012), los pacientes con DCLa mostraron una disminución de espesor cortical que fue especialmente evidente en áreas laterales y mediales del lóbulo temporal así como en la ínsula y regiones prefrontales mediales. Este daño cortical fue independiente del genotipo APOE4, aunque los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostraron una reducción del espesor cortical más acentuada en regiones del cíngulo anterior que los DCLa  $\epsilon 4^-$ . Sin embargo, estos cambios no guardaron relación alguna con los niveles de ejecución en la tarea de memoria visuoespacial. Las diferencias cualitativas en los correlatos estructurales de la memoria se circunscribieron al lóbulo temporal derecho. Mientras que el factor determinante de la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^+$  fue la atrofia del hipocampo, en los DCLa  $\epsilon 4^-$  lo fue la disminución de espesor en regiones corticales del lóbulo temporal medial y del polo temporal.

La relación entre la atrofia del hipocampo y el deterioro de la memoria episódica en el DCL (e.g., Chételat *et al.*, 2003; Leube *et al.*, 2008; Sánchez-Benavides *et al.*, 2010; Schmidt-Wilcke *et al.*, 2009) así como su capacidad para predecir la conversión a EA está bien documentada (e.g., Apostolova *et al.*, 2006; Chételat *et al.*, 2005; Whitwell *et al.*, 2008). Por el contrario, existe controversia en lo que respecta al papel del genotipo APOE4 en dicha relación. Algunos estudios encuentran que el APOE4 en el DCL agrava el deterioro de la memoria episódica asociado a la atrofia del hipocampo (Troyer *et al.*, 2012) mientras que otros no encuentran este resultado (Atienza *et al.*, 2011a; Morra *et al.*, 2009). Es muy posible que esta controversia se deba a que dichos efectos, de existir, se localicen en diferentes subestructuras del hipocampo, cuya delimitación anatómica requeriría de equipos de RM con una mayor intensidad del campo magnético. De hecho, en un estudio en el que se evaluó el volumen de las diferentes capas del hipocampo utilizando un campo magnético de 7 Teslas, fue posible localizar el efecto del APOE4 sobre el déficit episódico dependiente del hipocampo en CA1, tanto en pacientes con DCL como en pacientes con EA (Kerchner *et al.*, 2014).

Independientemente de que el efecto del *APOE4* pueda ser más o menos focal, el presente trabajo de Tesis ha puesto de manifiesto por primera vez que la naturaleza de la relación existente entre el volumen del hipocampo y la memoria episódica en el DCLa está determinada por dicho genotipo. En particular, nuestros resultados sugieren que los DCLa  $\epsilon 4^-$ , aún cuando presenten una reducción del volumen del hipocampo, logran afrontar adecuadamente la tarea de memoria reclutando mecanismos neurales compensatorios. En esta línea, los análisis de mediación realizados mostraron que algunas de las áreas corticales reclutadas por los DCLa  $\epsilon 4^-$  durante la recuperación mediante las oscilaciones theta y alfa/beta actuaron como mediadores de la relación entre el volumen del hipocampo y la memoria, siempre y cuando otras regiones del lóbulo temporal mantuvieran un cierto grado de integridad anatómica. Por el contrario, el deterioro de la memoria episódica en los DCLa  $\epsilon 4^+$  mostró una estrecha asociación con el volumen del hipocampo, de tal manera que cualquier intento de reorganización funcional neocortical no fue suficiente para amortiguar el impacto sobre la memoria.

El marco teórico que sustenta los objetivos e hipótesis de esta Tesis asume que los diferentes mecanismos cerebrales que subyacen a la formación de la memoria episódica requieren de la interacción entre el hipocampo y la neocorteza. Mientras que la neocorteza participaría en la adquisición gradual del conocimiento sobre el ambiente, el hipocampo sería el principal responsable de la adquisición rápida de los detalles que conforman las experiencias individuales (McClelland *et al.*, 1995; modelo actualizado en Kumaran *et al.*, 2016). El hipocampo por sí solo no se bastaría para desarrollar esta labor dada sus limitaciones de capacidad (Treves & Rolls, 1992), de ahí que dependa de la neocorteza para realizar generalizaciones e incrementar su eficiencia. Desde el punto de vista neural, se ha sugerido que estos procesos estarían indexados por mecanismos de sincronización en los rangos de theta y gamma en el hipocampo, y de desincronización de alfa/beta en la neocorteza (Hanslmayr *et al.*, 2016). ¿Cómo interpretar entonces los cambios observados en el rango de theta en el lóbulo temporal y en la corteza prefrontal en relación con la memoria en el grupo con DCLa  $\epsilon 4^-$ ?

Los incrementos de potencia de theta en regiones corticales se han interpretado como una evidencia de la sincronización de fase entre esas regiones y otras relacionadas estructural y/o funcionalmente (e.g., Fell & Axmacher, 2011; Jutras & Buffalo, 2010). En línea con esta interpretación, evidencias recientes han mostrado que tanto los aumentos como disminuciones de potencia de theta en diferentes regiones de la neocorteza se acompañan de incrementos en la sincronía de fase en este mismo rango de frecuencia entre regiones distantes de la corteza (Burke *et al.*, 2013), y que la sincronía de fase entre el hipocampo y la neocorteza es un magnífico predictor de la memoria episódica (Foster *et al.*, 2013; Fuentemilla *et al.*, 2014). Por lo tanto, el aumento de la relación encontrada entre la memoria y la potencia de theta en áreas temporales y prefrontales en los DCLa  $\epsilon 4^-$  al compararlos con los controles podría estar reflejando que el reconocimiento visuoespacial en estos pacientes requiere de una mayor comunicación entre estas regiones y el hipocampo. Desafortunadamente, la técnica del EEG impide establecer si dichas relaciones se están produciendo realmente. No obstante, el hecho que la activación del circuito fronto-temporal en el rango de theta fuera el que determinara el reclutamiento de regiones corticales posteriores en el rango de alfa/beta y no al contrario, sustenta la hipótesis de que theta está reflejando la actividad del sistema hipocampal y alfa/beta la actividad del sistema neocortical subsidiario. Además, esta hipótesis se ve respaldada por otros dos hallazgos. Por un lado, los cambios en la potencia de theta que se asociaron a la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$  se localizaron en regiones heteromodales temporales y frontales, las cuales mantienen conexiones tanto estructurales como funcionales con el hipocampo (para una revisión ver Preston & Eichenbaum, 2013), mientras que los cambios en alfa/beta se localizaron en regiones de asociación perceptivas. Y por otro, se encontró que los cambios de potencia en theta mediaron la relación entre la atrofia del lóbulo temporal y la memoria, mientras que los cambios de potencia en alfa/beta solo mediaron la relación entre la potencia de theta y la memoria.

Nos parece importante subrayar que las diferencias en los correlatos neurales de la memoria entre los DCLa portadores y no portadores del genotipo *APOE4* se limitaron a las regiones reclutadas a través de las oscilaciones theta. Dado que ambos grupos mostraron un nivel

similar de atrofia del hipocampo, que los cambios en la potencia de theta asociados a la memoria se acompañan de cambios en las relaciones de fase entre el hipocampo y la neocorteza (Foster *et al.*, 2013; Fuentemilla *et al.*, 2014) y que el patrón de conectividad funcional del hipocampo está modulado por el genotipo *APOE4* tanto en mayores sanos como en el DCL y la EA (Heise *et al.*, 2014; Lu *et al.*, 2017; Pasquini *et al.*, 2015; Tahmasian *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2006), pudiera ser que el fallo en los mecanismos de sincronía entre hipocampo y neocorteza fuera el último responsable de que los DCLa  $\epsilon 4^+$  tuvieran dificultades para reclutar áreas en la neocorteza capaces de compensar el deterioro cognitivo asociado a la atrofia del hipocampo. A continuación se discutirán los mecanismos que potencialmente podrían facilitar este efecto.

#### **5.1.5. Mecanismos asociados al genotipo *APOE4* que podrían dificultar/impedir el reclutamiento de mecanismos neurales compensatorios efectivos en pacientes con DCLa**

Nuestros resultados mostraron que la presencia del genotipo *APOE4* en pacientes con DCL no se acompañó de cambios notables en la estructura del hipocampo y/o de la neocorteza. Este resultado es coherente con estudios previos que muestran que la capacidad del volumen del hipocampo para distinguir a los controles de los DCL en estudios transversales es independiente del *APOE4* (Apostolova *et al.*, 2014). Dado que la principal diferencia entre los DCLa  $\epsilon 4^+$  y los DCLa  $\epsilon 4^-$  consistió en el efecto diferencial que ejerció la atrofia del hipocampo sobre la memoria, nos preguntamos si el genotipo *APOE4* desencadena fallos en los mecanismos funcionales que actúan en esta estructura del lóbulo temporal medial, y si dichos fallos pudieran ser responsables de la incapacidad para reclutar mecanismos compensatorios a nivel neocortical.

Estudios previos han mostrado que los ratones que portan el genotipo *APOE4* humano activan mecanismos colinérgicos en el hipocampo capaces de compensar los daños incipientes que se producen en la corteza entorrinal (Bott *et al.*, 2016). Pero como discutiremos en el siguiente apartado, es poco probable que este déficit por si solo pueda explicar la incapacidad de los

---

DCLa  $\epsilon 4^+$  para reclutar mecanismos compensatorios corticales. Alternativamente, dicho déficit podría estar asociado a la disminución de conectividad funcional entre el hipocampo y la neocorteza en los DCLa  $\epsilon 4^+$  (Heise *et al.*, 2014; Lu *et al.*, 2017; Pasquini *et al.*, 2015; Tahmasian *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2006) y/o a la pérdida de integridad de las conexiones intracorticales cortas y/o haces de fibras largas que conectan regiones corticales distantes como resultado del efecto nocivo que ejerce la acumulación de A $\beta$  sobre la microestructura de la sustancia blanca (Bartzokis, 2011).

#### **5.1.5.1. El genotipo APOE4 podría interferir con el reclutamiento de mecanismos colinérgicos compensatorios en el hipocampo de pacientes con DCLa**

Evidencias recientes muestran que el aumento dendrítico y axonal de las neuronas colinérgicas del giro dentado que se produce tras una lesión parcial de la corteza entorrinal es suficiente para que los ratones puedan ejecutar adecuadamente una tarea de memoria espacial, incluso antes de que se produzca la lenta reinervación glutamatérgica (Bott *et al.*, 2016). Sin embargo, el citado estudio también puso de manifiesto que este mecanismo compensatorio no funciona en los ratones transgénicos que expresan el APOE4 humano. A pesar de estos resultados, es poco probable que la ausencia de compensación neural a nivel neocortical en los DCLa  $\epsilon 4^+$  esté reflejando un déficit para reclutar mecanismos colinérgicos compensatorios en el giro dentado. A continuación se exponen los principales argumentos que nos llevan a esta conclusión.

Los pacientes con DCLa presentan un incremento de colinacetiltransferasa (ChAT) tanto en el hipocampo como en la corteza frontal (DeKosky *et al.*, 2002) que podría ser un reflejo del mecanismo compensatorio descrito por Bott *et al.* (2016) ante la muerte neuronal que se produce en la corteza entorrinal de estos pacientes (Kordower *et al.*, 2001). Esta interpretación es poco plausible, en primer lugar porque la muerte neuronal en la corteza entorrinal está fundamentalmente asociada a una reducción de las proyecciones colinérgicas del prosencéfalo basal (Mufson *et al.*, 2008), fenómeno que parece ser independiente del genotipo APOE4

(Tosun *et al.*, 2011); y en segundo lugar, porque los incrementos de ChAT no necesariamente tienen que tener un carácter compensatorio. Bott y colaboradores (2016) observaron que la lesión parcial de la corteza entorrinal se acompañaba de hiperexcitabilidad neuronal en regiones del giro dentado que recibían inervaciones colinérgicas, lo cual explicó gran parte de la variabilidad en la ejecución de la tarea espacial. Aunque existen evidencias derivadas de estudios con RMf que muestran incrementos de activación del hipocampo asociados a la ejecución de una tarea de memoria en pacientes con DCL, que podrían ser causados por el aumento de ChAT, dicho patrón de sobreactivación parece más bien reflejar disfunciones sinápticas que conducen a un patrón de hiperexcitabilidad neuronal asociado a la presencia de A $\beta$  (en forma de oligómeros solubles o en agregados) que ser el resultado de un mecanismo compensatorio efectivo (Huijbers *et al.*, 2015; Miller *et al.*, 2008; O'Brien *et al.*, 2010; Putcha *et al.*, 2011). Además, trabajos recientes han puesto de manifiesto que el patrón de hiperactivación del hipocampo es independiente del genotipo *APOE4* en pacientes con DCLa (Tran *et al.*, 2017). Luego, no parece que el incremento de ChAT en el hipocampo de los DCL  $\epsilon 4^-$  pueda explicar las diferencias de compensación neural halladas en el presente estudio.

#### **5.1.5.2. El genotipo *APOE4* podría interferir con la conectividad cortico-cortical en pacientes con DCLa**

Para entender cómo el *APOE4* podría interferir con el reclutamiento de mecanismos neocorticales capaces de compensar el deterioro cognitivo producido por la atrofia del hipocampo en pacientes con DCLa, se requiere tener en cuenta las alteraciones de la sustancia blanca y de la mielina. Durante el envejecimiento se producen disfunciones en la conducción axonal asociadas a alteraciones de la mielina que podrían afectar a los mecanismos neurales que subyacen a la formación de la memoria, ya que cambios sutiles en los tiempos de transmisión nerviosa han mostrado tener un impacto negativo sobre las propiedades espacio-temporales de las oscilaciones EEG (Pajevic *et al.*, 2014). El cerebro durante el envejecimiento trata de contrarrestar esta pérdida de mielina mediante la activación de procesos homeostáticos de reparación que contribuyen en gran medida a la acumulación de



los elementos patofisiológicos que caracterizan a la EA (Bartzokis, 2011). De hecho, las alteraciones de la sustancia blanca, como la leucoaraiosis, pueden incluso producir patrones aberrantes de actividad cerebral (Mascalchi *et al.*, 2014) de la misma forma que ocurre con la concentración de oligómeros solubles de A $\beta$  (Palop & Mucke, 2010).

Es posible, por tanto, que las alteraciones de conectividad entre el hipocampo y la neocorteza o entre diferentes regiones corticales constituyan una vía alternativa a través de la cual el *APOE4* impediría el reclutamiento de mecanismos compensatorios en la neocorteza. En un estudio de RMf realizado en condiciones de reposo cerebral en personas mayores cognitivamente intactas, se observó que el hipocampo mostraba una disminución de la conectividad funcional con el cíngulo posterior y con diferentes regiones de la corteza prefrontal en los que portaban el genotipo *APOE4*, hecho que demostró afectar negativamente a la memoria. Lo interesante es que esto ocurrió en ausencia de cambios en el volumen de la sustancia gris del propio hipocampo (Li *et al.*, 2014). Esta disminución de la conectividad funcional parece no limitarse al hipocampo y neocorteza. De hecho, el patrón de conectividad funcional entre regiones neocorticales posteriores, relacionadas con la función visual, memoria episódica y memoria semántica, está igualmente alterado en personas mayores sanas portadoras del *APOE4*, y muy especialmente en aquellas que además de portar este genotipo presentaban DCL (McKenna *et al.*, 2016). Este hallazgo casa bastante bien con los resultados del presente estudio. Es posible que una reducción de la conectividad funcional entre regiones corticales posteriores importantes para la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$  incapacitara a los DCLa  $\epsilon 4^+$  para reclutar estas regiones durante la tarea de reconocimiento visuoespacial. Esta interpretación recibe soporte experimental de estudios relacionados con la pérdida de integridad de la sustancia blanca. De hecho, los tractos de sustancia blanca están claramente afectados en el DCLa, incluso cuando no se produce pérdida de sustancia gris en el hipocampo (Zhuang *et al.*, 2013). El hecho que el genotipo *APOE4* afecte a la integridad de la sustancia blanca desde edades muy tempranas (Adluru *et al.*, 2014; Heise *et al.*, 2011) podría explicar que la disminución de conectividad funcional entre el hipocampo y la neocorteza se agrave en los DCL portadores del *APOE4* (Heise *et al.*, 2014; Lu *et al.*, 2017; Pasquini *et al.*, 2015; Tahmasian *et al.*, 2015; Wang *et al.*,

2006). Esto explicaría a su vez la dificultad para reclutar mecanismos corticales compensatorios en este subgrupo de pacientes.

Uno de los resultados más complejos de interpretar en el presente estudio es la relación hallada entre la potencia de theta en regiones laterales del lóbulo temporal y la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^+$ , regiones en las que estos pacientes mostraron una disminución significativa de la potencia de theta en comparación con los controles. Estudios previos han confirmado que la disminución de activación en determinadas regiones corticales puede verse acompañada de incrementos en la conectividad funcional con otras áreas de la corteza (Burke *et al.*, 2013). Por ejemplo, Oh y Jagust (2013) compararon personas mayores cognitivamente normales que presentaban una acumulación cerebral de A $\beta$  por encima de lo normal con otras que presentaban una carga de A $\beta$  más baja, tanto mayores como jóvenes. Aunque los mayores con baja carga de A $\beta$  mostraron una actividad reducida en regiones temporales y frontales durante la codificación en comparación con los jóvenes, también presentaron un incremento de la conectividad funcional entre dichas regiones que correlacionó positivamente con la ejecución en la tarea de memoria. Por el contrario, estos resultados no se observaron en las personas mayores que mostraban una alta carga de A $\beta$  cerebral. Luego, parece obvio que la acumulación cerebral de A $\beta$  altera significativamente la conectividad funcional entre regiones fronto-temporales durante la codificación (Oh & Jagust, 2013). Si a esto le unimos que el genotipo *APOE4* facilita la acumulación de A $\beta$  (Liu *et al.*, 2013), y que los DCL que muestran niveles elevados de A $\beta$  cerebral presentan con mayor frecuencia el genotipo *APOE4* y tienen una peor memoria (Pike *et al.*, 2007), es probable que la incapacidad para reclutar mecanismos compensatorios que muestran los DCLa  $\epsilon 4^+$  pueda explicarse por el efecto pernicioso que tiene la acumulación de A $\beta$  sobre la sustancia blanca (Collins-Praino *et al.*, 2014).

## 5.2. Las alteraciones de las oscilaciones alfa asociadas a la memoria y el volumen de la amígdala predicen la progresión de DCLa a EA

El presente trabajo ha demostrado que la combinación de biomarcadores obtenidos a partir de imágenes de RM cerebral junto con biomarcadores derivados de la actividad EEG durante una tarea de memoria predicen exitosamente la progresión de la EA en pacientes con DCLa. En concreto, el volumen de la amígdala derecha junto con los cambios en la desincronización de alfa en el cíngulo posterior izquierdo predijo con un 81% de precisión el diagnóstico de EA con dos años de antelación. La novedad de nuestro estudio reside en mostrar que la capacidad predictiva de los cambios estructurales del lóbulo temporal medial, propuestos como biomarcadores de la EA (Albert *et al.*, 2011), mejora significativamente al combinarse con los cambios en las oscilaciones alfa registradas durante una tarea de memoria asociativa (Prieto del Val *et al.*, 2016; Anexo II).

Aunque en el ámbito de los biomarcadores, la atrofia del hipocampo se considera como uno de los índices que mejor predicen la conversión a la EA (*e.g.*, Chételat *et al.*, 2005), esta conclusión no está exenta de controversia (Brück *et al.*, 2013; Killiany *et al.*, 2002; Rowe *et al.*, 2013). De hecho, otras regiones del lóbulo temporal medial, como la amígdala o la corteza entorrinal, son también excelentes predictores (Liu *et al.*, 2010; Killiany *et al.*, 2002; Poulin *et al.*, 2011). Los resultados del presente trabajo muestran que la atrofia de la amígdala predice exitosamente la conversión a EA, con una precisión del 77,5%. La importancia de la amígdala en el contexto de la EA no se debe exclusivamente a su papel en la formación de nuevas memorias (Murray & Wise, 2004), sino también al hecho de ser una de las regiones cerebrales que concentra más placas de A $\beta$  (Markesbery *et al.*, 2006; Sepulcre *et al.*, 2013; Thal *et al.*, 2002) y ONF (Braak & Braak, 1991), así como una de las primeras regiones que muestra un deterioro acelerado justo antes de que se produzca el incremento patológico de A $\beta$  (Insel *et al.*, 2015).

De acuerdo con la hipótesis que propone que la neuropatología de la EA se propaga de manera similar a la de los priones, esto es vía axonal a través de las neuronas colindantes

(Brundin *et al.*, 2010), cabría esperar que las regiones más conectadas con la amígdala también mostraran mayor acumulación de patología. De hecho, el lóbulo temporal medial en su conjunto y la amígdala en particular están íntimamente conectados con el cíngulo posterior (Chase *et al.*, 2014; Insausti *et al.*, 1987; Kobayashi & Amaral, 2003; Stein *et al.*, 2007; Suzuki & Amaral, 1994; Vogt *et al.*, 1992), región que junto con el precúneo soportan la mayor acumulación de A $\beta$  (Driscoll *et al.*, 2012). En línea con esta hipótesis, evidencias recientes han mostrado que la disminución de volumen del núcleo basolateral de la amígdala correlaciona con el nivel de atrofia del núcleo basal de Meynert en pacientes con DCLa (Cantero *et al.*, en prensa). La importancia de este resultado reside en que el núcleo basolateral de la amígdala es el único núcleo amigdalino que recibe proyecciones colinérgicas del núcleo basal de Meynert (Mesulam & Geula, 1988), dos regiones severamente afectadas por las lesiones de la EA (Geula & Mesulam, 1994; Emre *et al.*, 1993).

A nivel macroscópico, los pacientes en las fases preclínicas y prodrómicas de la EA muestran alteraciones en el metabolismo del cíngulo posterior, y en la conectividad de éste con otras regiones (Agosta *et al.*, 2012; Chételat *et al.*, 2003; Damoiseaux *et al.*, 2012; Greicius *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 2012; Pihlajamaki *et al.*, 2009; Qi *et al.*, 2010; Rombouts *et al.*, 2005; Schwindt & Black, 2009; Sorg *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2006, 2016; Zhou *et al.*, 2010). De hecho, algunos estudios han confirmado que las alteraciones metabólicas en el cíngulo posterior durante la codificación de asociaciones son las que mejor predicen la conversión a EA en personas con DCL (Petrella *et al.*, 2007). A nivel microscópico, la densidad de proteínas pre y postsinápticas en el cíngulo posterior disminuye a medida que avanza la EA y se asocia además con la cantidad de agregados de A $\beta$  acumulados en esta región (Scheff *et al.*, 2015).

Junto con el precúneo, la corteza cíngula posterior constituye el principal nodo de integración en la circuitería estructural y funcional del cerebro (Hagmann *et al.*, 2008). Muestra de ello es que ambas regiones forman parte de una de las redes cerebrales más estudiadas, la red por defecto (DMN, 'default mode network' en inglés). Las regiones que integran este circuito aumentan su conectividad funcional cuando las personas permanecen despiertas con los ojos

cerrados sin realizar ninguna tarea específica (Greicius *et al.*, 2003, 2004), y disminuye durante los procesos de codificación (Daselaar *et al.*, 2004; Duverne *et al.*, 2009) y recuperación de la memoria (Wagner *et al.*, 2005). El hecho que estas regiones presenten un nivel elevado de conectividad a lo largo de la vida con el elevado consumo metabólico que ello supone, podría explicar la predisposición que muestra esta región a la acumulación de A $\beta$  (Sperling *et al.*, 2009, 2010). Además, la precisión del cíngulo posterior y de la amígdala para predecir la conversión a EA podría venir dada también por el alto grado de plasticidad sináptica de sus neuronas, ya que las regiones más afectadas por la patología de la EA son también las que muestran un mayor nivel de plasticidad a lo largo de la vida (Arendt *et al.*, 1998).

Otro aspecto a destacar es que las oscilaciones EEG que más contribuyeron a predecir la conversión de DCL a EA se circunscribieron a la banda alfa, en el cíngulo posterior durante la codificación y en el cíneo durante la recuperación. Aunque las diferencias de grupo también se observaron en el rango de beta, los cambios en la potencia de estas oscilaciones en relación con la memoria no mostraron capacidad predictiva alguna. Estos resultados confirman el importante papel que juegan las alteraciones del ritmo alfa en el diagnóstico de las fases prodrómicas de la EA (Babiloni *et al.*, 2006a, 2011; Cantero *et al.*, 2009a, 2009b) y como predictores de la progresión de la enfermedad (Babiloni *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2000; Jelic *et al.*, 2000; López *et al.*, 2014; Luckhaus *et al.*, 2008; Moretti *et al.*, 2011). Además, trabajos recientes han mostrado que los cambios de conectividad funcional entre el cíngulo posterior y el lóbulo temporal medial en la banda alfa son más evidentes en aquellos DCLa que muestran concentraciones patológicas de A $\beta$  en LCR (Canuet *et al.*, 2015). La conectividad funcional entre el cíngulo posterior y el lóbulo temporal medial es esencial para los procesos de memoria (Celone *et al.*, 2006; Daselaar *et al.*, 2003, 2006; Pihlajamaki *et al.*, 2008), por lo que las alteraciones de la conectividad entre ambas regiones podrían contribuir a explicar el deterioro de la memoria que caracteriza a los pacientes con DCLa.

De acuerdo con nuestra hipótesis inicial, la combinación de un marcador de imagen cerebral estructural (volumen de la amígdala) y uno funcional (potencia de las oscilaciones alfa)

aumentó la capacidad predictiva que presentó cada uno de ellos por separado. Varios estudios han puesto de manifiesto la ventaja de evaluar la predicción de la EA utilizando más de un biomarcador (Da *et al.*, 2014; Douaud *et al.*, 2013; López *et al.*, 2016; Shaffer *et al.*, 2013). Debido a que la atrofia de regiones del lóbulo temporal medial está probablemente reflejando la presencia de ONF (Hampel *et al.*, 2004) y que los cambios en las oscilaciones EEG son posiblemente un correlato de las disfunciones sinápticas causadas por la acumulación de A $\beta$  en las capas III y V de la corteza donde abundan las neuronas piramidales (Peña-Ortega, 2013), la inclusión de ambos marcadores en un único modelo estaría proporcionando información complementaria sobre la trayectoria de ambos eventos patológicos, los cuales han mostrado ejercer un efecto sinérgico sobre el deterioro metabólico de la EA (Pascoal *et al.*, 2017).

Aunque los resultados aquí presentados tienen un carácter preliminar y deben ser replicados por diferentes laboratorios antes de trasladarlos a la clínica, la capacidad predictiva mostrada por las oscilaciones alfa durante la codificación apuntan a las oscilaciones EEG como un posible biomarcador de la progresión de la EA. Tendría especial interés evaluar si la combinación de las oscilaciones EEG con otros biomarcadores más utilizados (*e.g.*, LCR y PET de A $\beta$ ) mejora la predicción de la conversión a la EA en mayores asintomáticos que muestran patología de la EA (Dubois *et al.*, 2016). Establecer un pronóstico fiable sobre la progresión de la EA en estas personas será uno de los objetivos prioritarios de la medicina personalizada en los siguientes años. Ello permitirá planificar intervenciones terapéuticas adaptadas al daño cerebral de cada individuo y a su potencial para compensarlo.

### **5.3. Limitaciones del estudio**

El presente estudio presenta ciertas limitaciones que discutiremos a continuación. En primer lugar, la generalización de los resultados debería realizarse con cierta cautela dado el reducido tamaño de la muestra. Ello se explica fundamentalmente por la dificultad que supone reclutar pacientes con DCL de tipo amnésico en el contexto de una Unidad de Demencias. Los

---

problemas de memoria asociados al envejecimiento son considerados por muchos pacientes como parte del envejecimiento normal por lo que no acuden a los servicios de salud hasta que el problema comienza a interferir de manera habitual con sus tareas cotidianas, momento en el cual la mayoría recibe directamente el diagnóstico de EA. A ello se unen los elevados costes asociados a una evaluación con diferentes biomarcadores (e.g., neuropsicológicos, genéticos, neurofisiológicos y de neuroimagen) y su correspondiente seguimiento. El reducido número de pacientes empleado en este estudio podría haber influido en la ausencia de correlaciones significativas entre las oscilaciones EEG y la memoria asociativa en los DCLa  $\epsilon 4^+$  ( $n = 16$ ), ya que los análisis de correlación son muy dependientes del tamaño de la muestra. Sin embargo, el hecho de que otras correlaciones alcanzaran la significación estadística en el grupo de DCLa  $\epsilon 4^-$  ( $n = 18$ ) nos hace pensar que el tamaño de la muestra no fue decisivo en este resultado.

Por otra parte, para confirmar la progresión de DCLa a EA se requieren períodos de seguimiento comprendidos entre 5 y 10 años (Buchhave *et al.*, 2012). Dado que el seguimiento de los pacientes con DCLa de nuestro estudio se limitó a 2 años, no podemos descartar que ciertos individuos clasificados como estables desarrollaran EA en los siguientes años. Tampoco disponemos de información respecto a la evolución del grupo control, ya que éstos fueron evaluados en una única sesión. Podría darse el caso que algunos de los sujetos del grupo control ya se encontraran en la fase preclínica de la EA en el momento del reclutamiento, aspecto que no pudo ser confirmado con los biomarcadores empleados en el presente estudio.

Desafortunadamente, tampoco fue posible subdividir a los controles en portadores y no portadores del genotipo *APOE4*, dada la escasa presencia de este polimorfismo entre las personas mayores del grupo control. La inclusión de este grupo nos hubiera permitido evaluar si la ausencia de deterioro cognitivo en los *APOE4* se acompaña o no del reclutamiento de actividad neural compensatoria. De hecho, estudios previos realizados en personas mayores normales han mostrado que los sujetos portadores del genotipo *APOE4* muestran mayor actividad cerebral en regiones típicamente afectadas por la EA durante la codificación y posterior recuperación de la memoria (Bookheimer *et al.*, 2000; Wishart *et al.*, 2006).

Otro factor limitante que merece atención especial es el hecho de que las diferencias observadas tanto en el comportamiento como a nivel funcional al comparar DCLa  $\epsilon 4^-$  con DCLa  $\epsilon 4^+$  podrían deberse a que los pacientes DCLa  $\epsilon 4^+$  se encontraran en una fase más avanzada de la enfermedad que los DCLa  $\epsilon 4^-$ . De hecho, 10 de los DCLa  $\epsilon 4^+$  convirtieron a la EA mientras que solo 6 no lo hicieron. Esto solo podría haberse determinado utilizando biomarcadores en LCR o PET de amiloide, aspecto que ya estamos teniendo en cuenta en los siguientes experimentos.

Por último, la técnica del EEG posee una excelente resolución temporal pero su resolución espacial es modesta, impidiendo registrar actividad oscilatoria de estructuras subcorticales como el hipocampo. Esta información nos habría permitido investigar si la relación entre la atrofia del hipocampo y las oscilaciones theta corticales relacionadas con la memoria en los DCLa  $\epsilon 4^-$  estuvo a su vez mediada por las oscilaciones theta generadas en el hipocampo. Estudios previos realizados con registros intracraneales en humanos han demostrado que ambos generadores de theta, hipocampales y neocorticales, son independientes (Cantero *et al.*, 2003) y por lo tanto podrían interaccionar de manera específica en relación con la memoria.



**CONCLUSIONES / CONCLUSIONS**

---



## CONCLUSIONES

1. La presencia del genotipo *APOE4* en personas con DCLa altera la dinámica espectro-temporal y espacial de los circuitos neurales involucrados en la codificación y recuperación de las memorias asociativas. En particular, supone una disminución de la desincronización en el espectro de frecuencias alfa/beta, probablemente como resultado de una disfunción sináptica.
2. El deterioro de la memoria asociativa mostrado por los pacientes DCLa  $\epsilon 4^+$  se debe, en parte, a su incapacidad para beneficiarse de contextos semánticamente congruentes durante la codificación. Este hecho se vio reflejado en una menor desincronización de beta en regiones del lóbulo temporal, las cuales además de ser esenciales para el procesamiento del conocimiento semántico en general fueron claves para la codificación de las asociaciones congruentes en el grupo control en particular.
3. Aunque la atrofia del hipocampo en el DCLa parece ser independiente del genotipo *APOE4*, su impacto sobre la memoria sí está determinado por dicho genotipo. Mientras que en los DCLa  $\epsilon 4^+$  la atrofia del hipocampo ejerció un efecto directo sobre la memoria, en los DCLa  $\epsilon 4^-$  estuvo mediada por el grado de integridad estructural y funcional de diferentes regiones corticales del lóbulo temporal. Estos resultados sugieren que los DCLa no portadores del genotipo *APOE4* podrían llegar a contrarrestar los efectos del daño hipocampal reclutando mecanismos neurales compensatorios, lo cual estaría a su vez condicionado por la integridad de la corteza temporal.
4. La disminución de la desincronización de las oscilaciones alfa en el cíngulo posterior y el cíneo durante la codificación y recuperación, respectivamente, no solo predice exitosamente la conversión de DCLa a EA sino que además mejora la capacidad predictiva de los marcadores estructurales del lóbulo temporal. Estos resultados apoyan el uso de las oscilaciones EEG como potencial biomarcador de la EA.

## CONCLUSIONS

1. The presence of the *APOE4* genotype in people with aMCI impairs spectro-temporal and spatial dynamics in neural networks involved in the encoding and retrieval of associative memories. In particular, it results in a decrease in the desynchronization of frequencies in the alpha/beta spectrum, likely as a result of synaptic failure.
2. The deficit in episodic memory exhibited by aMCI  $\epsilon 4^+$  subjects is due, at least in part, to their inability to benefit from semantically congruent contexts during encoding. This results in lower desynchronization of beta in the temporal lobe, specifically in areas relevant not only for the processing of general semantic knowledge but which are also essential for the encoding of congruent associations, particularly in the control group.
3. Although hippocampal atrophy in aMCI seems to be independent of *APOE4* genotype, its impact on memory is indeed determined by this genotype. While hippocampal atrophy in aMCI  $\epsilon 4^+$  had a direct effect on memory, this effect was mediated in aMCI  $\epsilon 4^-$  by the degree of structural and functional integrity in different cortical regions of the temporal lobe. These results suggest that *APOE4* noncarriers with aMCI may counteract the effects of hippocampal atrophy by recruiting neural compensatory mechanisms, which in turn may be limited by the integrity of the temporal cortex.
4. The decrease in desynchronization of alpha oscillations in the posterior cingulate and the cuneus, during encoding and retrieval respectively, not only successfully predicts conversion from aMCI to AD but also improves the predictive capacity of structural biomarkers in the temporal lobe. These findings support the use of EEG oscillations as a potential biomarker of AD.

## ***REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---



**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Alzheimer A, Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde". *Clin Anat*. 1995; 8:429-431.
- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP. Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol*. 2013; 9:R774-788.
- Abuhassan K, Coyle D, Maguire LP. Investigating the neural correlates of pathological cortical networks in Alzheimer's disease using heterogeneous neuronal models. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2012; 59:890-896.
- Abuhassan K, Coyle D, Maguire L. Compensating for thalamocortical synaptic loss in Alzheimer's disease. *Front Comput Neurosci*. 2014; 8:65.
- Adaszewski S, Dukart J, Kherif F, Frackowiak R, Draganski B. How early can we predict Alzheimer's disease using computational anatomy? *Neurobiol Aging*. 2013; 34:2815-2826.
- Adluru N, Destiche DJ, Lu SYF, Doran ST, Birdsill AC. White matter microstructure in late middle-age: Effects of apolipoprotein E4 and parental family history of Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin*. 2014; 4:730-742.
- Agosta F, Pievani M, Geroldi C, Copetti M, Frisoni GB, Filippi M. Resting state fMRI in Alzheimer's disease: beyond the default mode network. *Neurobiol Aging*. 2012; 33:1564-1578.
- Ahmed S, Arnold R, Thompson SA, Graham KS, Hodges JR. Naming of objects, faces and buildings in mild cognitive impairment. *Cortex*. 2008; 44:746-752.
- Alberca-Reina E, Cantero JL, Atienza M. Semantic congruence reverses effects of sleep restriction on associative encoding. *Neurobiol Learn Mem*. 2014; 110:27-34.
- Albert M, Blacker D, Moss MB, Tanzi R, McArdle JJ. Longitudinal change in cognitive performance among individuals with mild cognitive impairment. *Neuropsychology*. 2007; 21:158-169.
- Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011; 7:270-279.
- Allison T, Puce A, Spencer DD, McCarthy G. Electrophysiological studies of human face perception. I: Potentials generated in occipitotemporal cortex by face and non-face stimuli. *Cereb Cortex*. 1999; 9:415-430.
- Alves GS, O'Dwyer L, Jurcoane A, Oertel-Knochel V, Knochel C, et al. Different patterns of white matter degeneration using multiple diffusion indices and volumetric data in mild cognitive impairment and Alzheimer patients. *PLoS One*. 2012; 7:e52859.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4a, ed.)*. Washington, DC, American Psychiatric Association. 1994.
- Apostolova LG, Dutton RA, Dinov ID, Hayashi KM, Toga AW, et al. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Arch Neurol*. 2006; 63:693-699.
- Apostolova LG, Hwang KS, Kohannim O, Avila D, Elashoff D, et al. ApoE4 effects on automated diagnostic classifiers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin*. 2014; 4:461-472.
- Arendt T. Synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2009; 118:167-179.

- Arendt T, Bruckner MK, Gertz HJ, Marcova L. Cortical distribution of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease matches the pattern of neurones that retain their capacity of plastic remodelling in the adult brain. *Neuroscience*. 1998; 83:991-1002.
- Aron A, Aron EN. The self expansion model of motivation and cognition in close relationships and beyond. In M Clark & G. Fletcher (Eds), *Blackwell Handbook in Social Psychology, Vol. 2: Interpersonal Processes* Oxford: Blackwell; 2001; pp. 478-501.
- Arriagada PV, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Hyman BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology*. 1992; 42:631-639.
- Atienza M, Atalaia-Silva KC, Gonzalez-Escamilla G, Gil-Neciga E, Suarez-Gonzalez A, et al. Associative memory deficits in mild cognitive impairment: the role of hippocampal formation. *Neuroimage*. 2011a; 57:1331-1342.
- Atienza M, Crespo-Garcia M, Cantero JL. Semantic congruence enhances memory of episodic associations: role of theta oscillations. *J Cogn Neurosci*. 2011b; 23:75-90.
- Babiloni C, Binetti G, Cassetta E, Dal Forno G, Del Percio C, et al. Sources of cortical rhythms change as a function of cognitive impairment in pathological aging: a multicenter study. *Clin Neurophysiol*. 2006a; 117:252-68.
- Babiloni C, Carducci F, Lizio R, Vecchio F, Baglieri A, et al. Resting state cortical electroencephalographic rhythms are related to gray matter volume in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*. 2013 Jun; 34:1427-1446.
- Babiloni C, Cassetta E, Binetti G, Tombini M, Del Percio C, et al. Resting EEG sources correlate with attentional span in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*. 2007; 25:3742-3757.
- Babiloni C, Del Percio C, Lizio R, Marzano N, Infarinato F, et al. Cortical sources of resting state electroencephalographic alpha rhythms deteriorate across time in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2014; 35:130-142.
- Babiloni C, Ferri R, Binetti G, Cassarino A, Dal Forno G, et al. Fronto-parietal coupling of brain rhythms in mild cognitive impairment: a multicentric EEG study. *Brain Res Bull*. 2006b; 69: 63-73.
- Babiloni C, Ferri R, Binetti G, Vecchio F, Frisoni GB, et al. Directionality of EEG synchronization in Alzheimer's disease subjects. *Neurobiol Aging*. 2009a; 30:93-102.
- Babiloni C, Frisoni GB, Pievani M, Vecchio F, Lizio R, et al. Hippocampal volume and cortical sources of EEG alpha rhythms in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neuroimage*. 2009b; 44:123-135.
- Babiloni C, Frisoni GB, Vecchio F, Lizio R, Pievani M, et al. Stability of clinical condition in mild cognitive impairment is related to cortical sources of alpha rhythms: an electroencephalographic study. *Hum Brain Mapp*. 2011; 32:1916-3191.
- Babiloni C, Visser PJ, Frisoni G, De Deyn PP, Bresciani L, et al. Cortical sources of resting EEG rhythms in mild cognitive impairment and subjective memory complaint. *Neurobiol Aging*. 2010; 31:1787-1798.
- Bäckman L, Jones S, Berger AK, Laukka EJ, Small BJ. Multiple cognitive deficits during the transition to Alzheimer's disease. *J Inter Med*. 2004; 256:195-204.
- Bäckman L, Jones S, Berger AK, Laukka EJ, Small BJ. Cognitive impairment in preclinical Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neuropsychology*. 2005; 19:520-531.
- Bai F, Watson DR, Yu H, Shi Y, Yuan Y, et al. Abnormal resting-state functional connectivity of posterior cingulate cortex in amnesic type mild cognitive impairment. *Brain Res*. 2009; 1302:167-174.
- Balardin JB, Batistuzzo MC, Martin Mda G, Sato JR, Smid J, et al. Differences in prefrontal cortex activation and deactivation during strategic episodic verbal memory encoding in mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci*. 2015; 7:147.



- Bangen KJ, Clark AL, Werhane M, Edmonds EC, Nation DA, et al. Cortical amyloid burden differences across empirically-derived mild cognitive impairment subtypes and interaction with APOE  $\epsilon$ 4 genotype. *J Alzheimers Dis.* 2016; 52:849-861.
- Barbeau EJ, Didic M, Joubert S, Guedj E, Koric L, et al. Extent and neural basis of semantic memory impairment in mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2012; 28:823-837.
- Baron RM, Kenny DA. The moderator-mediator variable distinction in social psychological research: conceptual, strategic, and statistical considerations. *J Pers Soc Psychol.* 1986; 51:1173-1182.
- Bartzokis G. Alzheimer's disease as homeostatic responses to age-related myelin breakdown. *Neurobiol Aging.* 2011; 32:1341-1371.
- Barulli D, Stern Y. Efficiency, capacity, compensation, maintenance, plasticity: emerging concepts in cognitive reserve. *Trends Cogn Sci.* 2013; 17:502-509.
- Başar E, Düzgün A. Links of Consciousness, Perception, and Memory by Means of Delta Oscillations of Brain. *Front Psychol.* 2016; 7:275.
- Bell AJ, Sejnowski TJ. An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Comput.* 1995; 7:1129-1159.
- Belleville S, Boller B, Prieto del Val, L. Cognitive Training in Mild Cognitive Impairment. In: Strobach, T., Karbach, J. (Eds). *Cognitive Training: An Overview of Features and Applications.* Springer International Publishing, Cham. 2016; pp. 187-197.
- Belleville S, Sylvain-Roy S, de Boysson C, Menard MC. Characterizing the memory changes in persons with mild cognitive impairment. *Prog Brain Res.* 2008; 169:365-375.
- Bennett DA, Schneider JA, Arvanitakis Z, Wilson RS, Li Y, Arnold SE, et al. Neuropathology of older persons without cognitive impairment from two community-based studies. *Neurology.* 2006; 66:1837-1844.
- Bennett DA, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, Wilson RS. Mild cognitive impairment is related to Alzheimer disease pathology and cerebral infarctions. *Neurology.* 2005; 64:834-841.
- Bennett DA, Schneider JA, Wilson RS, Bienias JL, Arnold SE. Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical Alzheimer disease and level of cognitive function. *Arch Neurol.* 2004; 61:378-384.
- Bennys K, Rondouin G, Benattar E, Gabelle A, Touchon J. Can event-related potential predict the progression of mild cognitive impairment? *J Clin Neurophysiol.* 2011; 28:625-632.
- Bernal-Rusiel JL, Atienza M, Cantero JL. Determining the optimal level of smoothing in cortical thickness analysis: a hierarchical approach based on sequential statistical thresholding. *Neuroimage.* 2010; 52:158-171.
- Bernes DE, Yaffe, K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol.* 2011; 10:819-828.
- Binder JR, Desai RH. The neurobiology of semantic memory. *Trends Cogn Sci.* 2011; 15:527-536.
- Binder JR, Desai RH, Graves WW, Conant LL. Where is the semantic system? A critical review and meta-analysis of 120 functional neuroimaging studies. *Cereb Cortex.* 2009; 19:2767-2796.
- Bloom GS. Amyloid-beta and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis. *JAMA Neurol.* 2014; 71:505-508.
- Böhm P, Pena-Casanova J, Aguilar M, Hernandez G, Sol JM, et al. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities NORMACODEM Group. *Int Psychogeriatr.* 1998; 10:261-270.
- Bookheimer S, Burggren A. APOE-4 genotype and neurophysiological vulnerability to Alzheimer's and cognitive aging. *Annu Rev Clin Psychol.* 2009; 5:343-362.

- Bookheimer SY, Strojwas MH, Cohen MS, Saunders AM, Pericak-Vance MA, et al. Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2000; 343:450-456.
- Borroni B, Premi E, Bozzali M, Padovani A. Reserve mechanisms in neurodegenerative diseases: from bench to bedside and back again. *Curr Med Chem*. 2012; 19:6112-118.
- Bosch B, Arenaza-Urquijo EM, Rami L, Sala-Llonch R, Junqué C, et al. Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance. *Neurobiol Aging*. 2012; 33:61-74.
- Bott JB, Héraud C, Cosquer B, Herbeaux K, Aubert J. APOE-sensitive cholinergic sprouting compensates for hippocampal dysfunctions due to reduced entorhinal input. *J Neurosci*. 2016; 36:10472-10486.
- Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Kelly JF, Bennett DA. The APOE epsilon4 allele is associated with incident mild cognitive impairment among community-dwelling older persons. *Neuroepidemiology*. 2010; 34:43-49.
- Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*. 1991; 82:239-259.
- Braak H, Braak E. Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl*. 1996; 165:3-12.
- Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol*. 2011; 121:171-181.
- Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2011; 70:960-969.
- Brambati SM, Peters F, Belleville S, Joubert S. Lack of semantic priming effects in famous person recognition in mild cognitive impairment. *Cortex*. 2012; 48:414-420.
- Brück A, Virta JR, Koivunen J, Koikkalainen J, Scheinin NM, et al. [<sup>11</sup>C]PIB, [<sup>18</sup>F]FDG and MR imaging in patients with mild cognitive impairment. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 40:1567-1572.
- Brum PS, Yassuda MS, Forlenza OV. Subjective memory and strategy use in mild cognitive impairment and healthy aging. *Psychol Neurosci*. 2013; 6:89-94.
- Brundin P, Melki R, Kopito R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11:301-307.
- Bruner E, de la Cuétara JM, Masters M, Amano H, Ogiwara N. Functional craniology and brain evolution: from paleontology to biomedicine. *Front Neuroanat*. 2014; 8:19.
- Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*. 2009; 10:333-344.
- Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, et al. Cerebrospinal fluid levels of beta-amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry*. 2012; 69:98-106.
- Burke JF, Zaghoul KA, Jacobs J, Williams RB, Sperling MR. Synchronous and asynchronous theta and gamma activity during episodic memory formation. *J Neurosci*. 2013; 33:292-304.
- Buscema M, Grossi E, Capriotti M, Babiloni C, Rossini P. The IFAST model allows the prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment with high degree of accuracy. *Curr Alzheimer Res*. 2010; 7:173-187.
- Busche MA, Chen X, Henning HA, Reichwald J, Staufenbiel M, et al. Critical role of soluble amyloid- $\beta$  for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109:8740-8745.
- Busche MA, Eichhoff G, Adelsberger H, Abramowski D, Wiederhold KH, et al. Clusters of hyperactive neurons near amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science*. 2008; 321:1686-1689.

- Busse A, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. Progression of mild cognitive impairment to dementia: a challenge to current thinking. *Br J Psychiatry*. 2006; 189:399-404.
- Buzsáki G, Draguhn A. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*. 2004; 304:1926-1929.
- Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, et al. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science*. 2006; 313:1626-1628.
- Cantero JL, Atienza M, Cruz-Vadell A, Suarez-Gonzalez A, Gil-Neciga E. Increased synchronization and decreased neural complexity underlie thalamocortical oscillatory dynamics in mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 2009a; 46:938-948.
- Cantero JL, Atienza M, Gómez-Herrero G, Cruz-Vadell A, Gil-Néciga E, et al. Functional integrity of thalamocortical circuits differentiates normal aging from mild cognitive impairment. *Hum Brain Mapp*. 2009b; 30:3944-3957.
- Cantero JL, Atienza M, Stickgold R, Kahana MJ, Madsen JR, et al. Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex. *J Neurosci*. 2003; 23:10897-10903.
- Cantero JL, Zaborszky L, Atienza M. Volume loss of the nucleus basalis of Meynert is associated with atrophy of innervated regions in mild cognitive impairment. *Cerebral Cortex*. (en prensa).
- Canuet L, Pusil S, Lopez ME, Bajo R, Pineda-Pardo JA, et al. Network disruption and cerebrospinal fluid amyloid-beta and phospho-tau levels in mild cognitive impairment. *J Neurosci*. 2015; 35:10325-10330.
- Caselli RJ, Dueck AC, Osborne D, Sabbagh MN, Connor DJ, et al. Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE epsilon4 effect. *N Engl J Med*. 2009; 361:255-263.
- Cedazo-Minguez A, Cowburn RF. Apolipoprotein E: a major piece in the Alzheimer's disease puzzle. *J Cell Mol Med*. 2001; 5:254-266.
- Celone KA, Calhoun VD, Dickerson BC, Atri A, Chua EF, et al. Alterations in memory networks in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an independent component analysis. *J Neurosci*. 2006; 26:10222-10231.
- Cespon J, Galdo-Alvarez S, Pereiro AX, Diaz F. Differences between mild cognitive impairment subtypes as indicated by event-related potential correlates of cognitive and motor processes in a Simon task. *J Alzheimers Dis*. 2015; 43:631-647.
- Chapman RM, Mapstone M, Porsteinsson AP, Gardner MN, McCrary JW. Diagnosis of Alzheimer's disease using neuropsychological testing improved by multivariate analyses. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2010; 32:793-808.
- Chapman RM, McCrary JW, Gardner MN, Sandoval TC, et al. Brain ERP components predict which individuals progress to Alzheimer's disease and which do not. *Neurobiol Aging*. 2011; 32:1742-1755.
- Chase HW, Moses-Kolko EL, Zevallos C, Wisner KL, Phillips ML. Disrupted posterior cingulate-amygdala connectivity in postpartum depressed women as measured with resting BOLD fMRI. *Neurobiol Aging*. 2014; 32:1742-1755.
- Chételat G, Desgranges B, de la Sayette V, Viader F, Berkouk K, et al. Dissociating atrophy and hypometabolism impact on episodic memory in mild cognitive impairment. *Brain*. 2003; 126:1955-1967.
- Chételat G, Landeau B, Eustache F, Mezenge F, Viader F, et al. Using voxel-based morphometry to map the structural changes associated with rapid conversion in MCI: a longitudinal MRI study. *Neuroimage*. 2005; 27:934-946.
- Chua TC, Wen W, Slavin MJ, Sachdev PS. Diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a review. *Curr Opin Neurol*. 2008; 21:83-92.
- Clark CM, Schneider JA, Bedell BJ, Beach TG, Bilker WB, et al. Use of florbetapir-PET for imaging beta-amyloid pathology. *JAMA*. 2011; 305:275-283.
- Clément F, Belleville S. Compensation and disease severity on the memory-related activations in mild cognitive impairment. *Biol Psychiatry*. 2010; 68:894-902.

- Clément F, Belleville S. Effect of disease severity on neural compensation of item and associative recognition in mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2012; 29:109-123.
- Clément F, Gauthier S, Belleville S. Executive functions in mild cognitive impairment: Emergence and breakdown of neural plasticity. *Cortex.* 2013; 49:1268-1279.
- Coduras A, Rabasa I, Frank A, Bermejo-Pareja F, Lopez-Pousa S, et al. Prospective one-year cost-of-illness study in a cohort of patients with dementia of Alzheimer's disease type in Spain: the ECO study. *J Alzheimers Dis.* 2010; 19:601-615.
- Cohen RM, Small C, Lalonde F, Friz J, Sunderland T. Effect of apolipoprotein E genotype on hippocampal volume loss in aging healthy women. *Neurology.* 2001; 57:2223-2228.
- Collins-Praino LE, Francis YI, Griffith EY, Wiegman AF, Urbach J, et al. Soluble amyloid beta levels are elevated in the white matter of Alzheimer's patients, independent of cortical plaque severity. *Acta Neuropathol Commun.* 2014; 2:83.
- Corbo RM, Scacchi R. Apolipoprotein (ApoE) allele distribution in the world. Is APOE4 a 'thrifty' allele? *Ann Hum Genet.* 1999; 63:301-310.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science.* 1993; 261:921-923.
- Cosentino S, Scarmeas N, Helzner E, Glymour MM, Brandt J, et al. APOE epsilon 4 allele predicts faster cognitive decline in mild Alzheimer disease. *Neurology.* 2008; 70:1842-1849.
- Crespo-Garcia M, Cantero JL, Atienza M. Effects of semantic relatedness on age-related associative memory deficits: The role of theta oscillations. *Neuroimage.* 2012; 61:1235-1248.
- Crystal HA, Dickson DW, Sliwinski MJ, Lipton RB, Grober E, Marko-Nelson H, et al. Pathological markers associated with normal aging and dementia in the elderly. *Ann Neurology.* 1993; 34:566-573.
- Cuesta P, Barabash A, Aurtenetxe S, Garcés P, López ME, et al. Source analysis of spontaneous magnetoencephalographic activity in healthy aging and mild cognitive impairment: influence of apolipoprotein E polymorphism. *J Alzheimers Dis.* 2015a; 43:259-273.
- Cuesta P, Garcés P, Castellanos NP, López ME, Aurtenetxe S, et al. Influence of the APOE  $\epsilon$ 4 allele and mild cognitive impairment diagnosis in the disruption of the MEG resting state functional connectivity in sources space. *J Alzheimers Dis.* 2015b; 44:493-505.
- Da X, Toledo JB, Zee J, Wolk DA, Xie SX, et al. Integration and relative value of biomarkers for prediction of MCI to AD progression: Spatial patterns of brain atrophy, cognitive scores, APOE genotype and CSF biomarkers. *Neuroimage Clin.* 2013; 4:164-173.
- Dal Prà I, Chiarini A, Gui L, Chakravarthy B, Pacchiana R, et al. Do astrocytes collaborate with neurons in spreading the "infectious" abeta and Tau drivers of Alzheimer's disease? *Neuroscientist.* 2015; 21:9-29.
- Dalal SS, Sekihara K, Nagarajan SS. Modified beamformers for coherent source region suppression. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2006; 53:1357-1363.
- Damoiseaux JS, Prater KE, Miller BL, Greicius MD. Functional connectivity tracks clinical deterioration in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2012; 33:828.e19-30.
- Daselaar SM, Fleck MS, Dobbins IG, Madden DJ, Cabeza R. Effects of healthy aging on hippocampal and rhinal memory functions: an event-related fMRI study. *Cereb Cortex.* 2006; 16:1771-1782.
- Daselaar SM, Price SE, Cabeza R. When less means more: deactivations during encoding that predict subsequent memory. *Neuroimage.* 2004; 23:921-927.
- Daselaar SM, Veltman DJ, Rombouts SA, Raaijmakers JG, Jonker C. Neuroanatomical correlates of episodic encoding and retrieval in young and elderly subjects. *Brain.* 2003; 126:43-56.

- Davatzikos C, Bhatt P, Shaw LM, Batmanghelich KN, Trojanowski JQ. Prediction of MCI to AD conversion, via MRI, CSF biomarkers, and pattern classification. *Neurobiol Aging*. 2011; 32:2322.e19-27.
- De Blasi S, Montesanto A, Martino C, Dato S, De Rango F, et al. APOE polymorphism affects episodic memory among non demented elderly subjects. *Exp Gerontol*. 2009; 44:224-227.
- de Mendonça A, Ribeiro F, Guerreiro M, Garcia C. Frontotemporal mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*. 2004; 6:1-9.
- De Strooper B, Karran E. The Cellular Phase of Alzheimer's Disease. *Cell*. 2016; 164:603-615.
- Dean DC, Hurley SA, Kecskemeti SR, O'Grady JP, Canda C, et al. Association of amyloid pathology with myelin alteration in preclinical alzheimer disease. *JAMA Neurol*. 2017; 74:41-49.
- Dennis NA, Cabeza RE. Frontal lobes and aging: deterioration and compensation. In: Stuss DT, Knight RT, (Eds). *Principles of frontal lobe function*, 2nd Edition. New York: Oxford University Press. 2013; p. 628-652.
- Detriex C, Fischl B, Dale A, Halgren E. Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. *Neuroimage*. 2010; 53:1-15.
- Di Paola M, Macaluso E, Carlesimo GA, Tomaiuolo F, Worsley KJ, et al. Episodic memory impairment in patients with Alzheimer's disease is correlated with entorhinal cortex atrophy. A voxel-based morphometry study. *J Neurol*. 2007; 254:774-781.
- Dickerson BC, Salat DH, Bates JF, Atiya M, Killiany RJ, et al. Medial temporal lobe function and structure in mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 2004; 56:27-35.
- Dickerson BC, Salat DH, Greve DN, Chua EF, Rand-Giovannetti E, et al. Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology*. 2005; 65:404-411.
- Diwakar M, Huang MX, Srinivasan R, Harrington DL, Robb A, et al. Dual-core beamformer for obtaining highly correlated neuronal networks in MEG. *Neuroimage*. 2011; 54:253-263.
- Douaud G, Jbabdi S, Behrens TE, Menke RA, Gass A, et al. DTI measures in crossing-fibre areas: increased diffusion anisotropy reveals early white matter alteration in MCI and mild Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2011; 55:880-890.
- Douaud G, Menke RA, Gass A, Monsch AU, Rao A, et al. Brain microstructure reveals early abnormalities more than two years prior to clinical progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2013; 33:2147-2155.
- Douglas RJ, Martin KA. Neuronal circuits of the neocortex. *Annu Rev Neurosci*. 2004; 27:419-451.
- Driscoll I, Troncoso JC, Rudow G, Sojkova J, Pletnikova O, et al. Correspondence between in vivo (11)C-PiB PET amyloid imaging and post-mortem, region-matched assessment of plaques. *Acta Neuropathol*. 2012; 124:823-831.
- Drubin DG, Kirschner MW. Tau protein function in living cells. *J Cell Biol*. 1986; 103:2739-2746.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, Dekosky ST et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: A new lexicon. *Lancet Neurol*. 2010; 9:1118-1127.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007; 6:734-746.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 2014; 13:614-629.
- Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement*. 2016; 12:292-323.

- Dudas RB, Clague F, Thompson SA, Graham KS, Hodges JR. Episodic and semantic memory in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*. 2005; 43:1266-1276.
- Duverne S, Motamedinia S, Rugg MD. The relationship between aging, performance, and the neural correlates of successful memory encoding. *Cereb Cortex*. 2009; 19:733-744.
- Eckerström C, Olsson E, Bjerke M, Malmgren H, Edman A. A combination of neuropsychological, neuroimaging, and cerebrospinal fluid markers predicts conversion from mild cognitive impairment to dementia. *J Alzheimers Dis*. 2013; 36:421-431.
- Efron B, Tibshirani RJ. An introduction to the bootstrap. Chapman & Hall/CRC. 1993.
- Emre M, Heckers S, Mash DC, Geula C, Mesulam MM. Cholinergic innervation of the amygdaloid complex in the human brain and its alterations in old age and Alzheimer's disease. *J Comp Neurol*. 1993; 336:117-134.
- Erten-Lyons D, Woltjer RL, Dodge H, Nixon R, Vorobik R, et al. Factors associated with resistance to dementia despite high Alzheimer disease pathology. *Neurology*. 2009; 72:354-360.
- Eskildsen SF, Coupe P, Garcia-Lorenzo D, Fonov V, Pruessner JC, et al. Prediction of Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment from the ADNI cohort using patterns of cortical thinning. *Neuroimage*. 2013; 65:511-521.
- Espinosa A, Alegret M, Valero S, Vinyes-Junque G, Hernandez I, et al. A longitudinal follow-up of 550 mild cognitive impairment patients: evidence for large conversion to dementia rates and detection of major risk factors involved. *J Alzheimers Dis*. 2013; 34:769-780.
- Estévez-González A, Garcia-Sanchez C, Boltes A, Otermin P, Pascual-Sedano B, et al. Semantic knowledge of famous people in mild cognitive impairment and progression to Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2004; 17:188-195.
- Fagan A, Mintun M, Mach R, Lee SY, Dence CS, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and CSF A $\beta$ 42 in humans. *Ann Neurol*. 2006; 59:512-519.
- Fagan A, Roe C, Xiong C, Mintun M, Morris J, Holtzman D. Cerebrospinal fluid tau/A $\beta$ 42 ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol*. 2007; 64:343-349.
- Farfel JM, Yu L, De Jager PL, Schneider JA, Bennett DA. Association of APOE with tau-tangle pathology with and without beta-amyloid. *Neurobiol Aging*. 2016; 37:19-25.
- Farlow MR, He Y, Tekin S, Xu J, Lane R, et al. Impact of APOE in mild cognitive impairment. *Neurology*. 2004; 63:1898-1901.
- Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol*. 1987; 149:351-356.
- Fell J, Axmacher N. The role of phase synchronization in memory processes. *Nat Rev Neurosci*. 2011; 12:105-118.
- Fellgiebel A, Yakushev I. Diffusion tensor imaging of the hippocampus in MCI and early Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2011; 26:257-262.
- Fennema-Notestine C, Panizzon MS, Thompson WR, Chen CH, Eyler LT, et al. Presence of ApoE epsilon4 allele associated with thinner frontal cortex in middle age. *J Alzheimers Dis*. 2011; 26:49-60.
- Ferman TJ, Smith GE, Kantarci K, Boeve BF, Pankratz VS, et al. Nonamnestic mild cognitive impairment progresses to dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2013; 81:2032-2038.
- Fernández A, Arrazola J, Maestú F, Amo C, Gil-Gregorio P, et al. Correlations of hippocampal atrophy and focal low-frequency magnetic activity in Alzheimer disease: Volumetric MR imaging-magnetoencephalographic study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003; 24:481-487.
- Filippini N, Ebmeier KP, MacIntosh BJ, Trachtenberg AJ, Frisoni GB. Differential effects of the APOE genotype on brain function across the lifespan. *Neuroimage*. 2011; 54:602-610.

- Finder VH, Glockshuber R. Amyloid-beta aggregation. *Neurodegener Dis.* 2007; 4:13-27.
- Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97:11050-11055.
- Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans Med Imaging.* 2001; 20:70-80.
- Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage.* 1999; 9:195-207.
- Fjell AM, McEvoy L, Holland D, Dale AM, Walhovd KB. What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog Neurobiol.* 2014; 117:20-40.
- Fleisher AS, Chen K, Liu X, Ayutyanont N, Roontiva A, et al. Apolipoprotein E epsilon4 and age effects on florbetapir positron emission tomography in healthy aging and Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.* 2013; 34:1-12.
- Florez CM, McGinn RJ, Lukankin V, Marwa I, Sugumar S. In vitro recordings of human neocortical oscillations. *Cereb Cortex.* 2015; 25:578-597.
- Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G et al. PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2008; 29:1456-1465.
- Fowler KS, Saling MM, Conway EL, Semple JM, Louis WJ. Paired associate performance in the early detection of DAT. *J Int Neuropsychol Soc.* 2002; 8:58-71.
- Friston KJ, Price CJ. Degeneracy and redundancy in cognitive anatomy. *Trends Cogn Sci.* 2003; 7:151-152.
- Frith CD, Frith U. Interacting minds – a biological basis. *Science.* 1999; 286:1692-1695.
- Fuentemilla L, Barnes GR, Düzel E, Levine B. Theta oscillations orchestrate medial temporal lobe and neocortex in remembering autobiographical memories. *Neuroimage.* 2014; 85:730-737.
- Fujishima M, Maikusa N, Nakamura K, Nakatsuka M, Matsuda H, Meguro K. Mild cognitive impairment, poor episodic memory, and late-life depression are associated with cerebral cortical thinning and increased white matter hyperintensities. *Front Aging Neurosci.* 2014; 6:306.
- Fukumoto H, Cheung BS, Hyman BT, Irizarry MC. Beta-secretase protein and activity are increased in the neocortex in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2002; 59:1381-1389.
- Furney SJ, Kronenberg D, Simmons A, Güntert A, Dobson RJ. Combinational markers of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease-cytokines and MRI measures together predict disease progression. *J Alzheimers Dis.* 2011; 3:395-405.
- Gainotti G, Quaranta D, Vita MG, Marra C. Neuropsychological predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2014; 38:481-495.
- Galimberti D, Scarpini E. Disease-modifying treatments for Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord.* 2011; 4:203-216.
- Gandy S, Simon AJ, Steele JW, Lublin AL, Lah JJ, et al. Days to criterion as an indicator of toxicity associated with human Alzheimer amyloid-beta oligomers. *Ann Neurol.* 2010; 68:220-230.
- Garcés P, Vicente R, Wibrál M, Pineda-Pardo JÁ, López ME, et al. Brain-wide slowing of spontaneous alpha rhythms in mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci.* 2013; 5:100.
- GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2015; 385:117-171.

- Geula C, Mesulam MM. Cholinergic systems and related neuropathological predilection patterns in Alzheimer disease. In: RD Terry, R Katzman, KL Bick (Eds). *Alzheimer Disease*. Raven Press, New York; 1994; pp. 263-294.
- Ghebremedhin E, Schultz C, Braak E, Braak H. High Frequency of Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 Allele in young individuals with very mild Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Exp Neurol*. 1998; 153:152-155.
- Glabe CC. Amyloid accumulation and pathogenesis of Alzheimer's disease: significance of monomeric, oligomeric and fibrillar Abeta. *Subcell Biochem*. 2005; 38:167-177.
- Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984; 120:885-890.
- Goldman WP, Price JL, Storandt M, Grant EA, McKeel DW, et al. Absence of cognitive impairment or decline in preclinical Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001; 56:361-367.
- Gomez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, et al. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1997; 41:17-24.
- Gonzalez-Escamilla G, Atienza M, Cantero JL. Impaired cortical oscillatory coupling in mild cognitive impairment: anatomical substrate and ApoE4 effects. *Brain Struct Funct*. 2015; 220:1721-1737.
- Gonzalez-Escamilla G, Atienza M, Garcia-Solis D, Cantero JL. Cerebral and blood correlates of reduced functional connectivity in mild cognitive impairment. *Brain Struct Funct*. 2016; 221:631-645.
- Gofi J, Cervantes S, Arrondo G, Lamet I, Pastor P, et al. Selective brain gray matter atrophy associated with APOE epsilon4 and MAPT H1 in subjects with mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis*. 2013; 33:1009-1019.
- Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100:253-258.
- Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101:4637-4642.
- Grèzes J, Frith CD, Passingham RE. Inferring false beliefs from the actions of oneself and others: an fMRI study. *Neuroimage*. 2004; 21:744-750.
- Gross J, Kujala J, Hamalainen M, Timmermann L, Schnitzler A, et al. Dynamic imaging of coherent sources: Studying neural interactions in the human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98:694-699.
- Gruber T, Tsivilis D, Giabbiconi CM, Müller MM. Induced electroencephalogram oscillations during source memory: familiarity is reflected in the gamma band, recollection in the theta band. *J Cogn Neurosci*. 2008; 20:1043-1053.
- Grunwald M, Hensel A, Wolf H, Weiss T, Gertz H-J. Does the hippocampal atrophy correlate with the cortical theta power in elderly subjects with a range of cognitive impairment? *J Clin Neurophysiol*. 2007; 24:22-26.
- Guderian S, Düzel E. Induced theta oscillations mediate large-scale synchrony with mediotemporal areas during recollection in humans. *Hippocampus*. 2005; 15:901-912.
- Haass C, Selkoe DJ. Cellular processing of  $\beta$ -amyloid precursor protein and the genesis of amyloid  $\beta$ -peptide. *Cell*. 1993; 75:1039-1042.
- Hagmann P, Cammoun L, Gigandet X, Meuli R, Honey CJ, et al. Mapping the structural core of human cerebral cortex. *PLoS Biol*. 2008; 6:e159.
- Hämäläinen A, Pihlajamäki M, Tanila H, Hanninen T, Niskanen E, et al. Increased fMRI responses during encoding in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2007; 28:1889-1903.



- Hamm V, Heraud C, Cassel JC, Mathis C, Goutagny R. Precocious alterations of brain oscillatory activity in Alzheimer's disease: A window of opportunity for early diagnosis and treatment. *Front Cell Neurosci.* 2015; 9:491.
- Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreasen N, Wiltfang J, et al. Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry.* 2004; 9:705-710.
- Hanslmayr S, Spitzer B, Bauml KH. Brain oscillations dissociate between semantic and nonsemantic encoding of episodic memories. *Cereb Cortex.* 2009; 19:1631-1640.
- Hanslmayr S, Staresina BP, Bowman H. Oscillations and episodic memory: addressing the synchronization/desynchronization conundrum. *Trends Neurosci.* 2016; 39:16-25.
- Hanslmayr S, Staudigl T, Fellner M-C. Oscillatory power decreases and long-term memory: the information via desynchronization hypothesis. *Front Hum Neurosci.* 2012; 6:74.
- Hanslmayr S, Staresina BP, Bowman H. Oscillations and episodic memory - Addressing the synchronization/desynchronization conundrum. *Trends Neurosci.* 2016; 39:16-25.
- Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 1992; 256:184-185.
- Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science.* 2002; 297:353-356.
- Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, et al. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PICALM* associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 2009; 41:1088-1093.
- Hashimoto T, Serrano-Pozo A, Hori Y, Adams KW, Takeda S, et al. Apolipoprotein E, especially apolipoprotein E4, increases the oligomerization of amyloid beta peptide. *J Neurosci.* 2012; 32:15181-15192.
- Hayes AF. Beyond Baron and Kenny: Statistical mediation analysis in the new millennium. *Commun Monogr.* 2009; 76:408-420.
- Hayes AF. (Ed). *Introduction to mediation, moderation, and conditional process analysis: A regression-based approach.* New York, NY: Guilford; 2013.
- Heise V, Filippini N, Ebmeier KP, Mackay CE. The APOE  $\epsilon$ 4 allele modulates brain white matter integrity in healthy adults. *Mol Psychiatry.* 2011; 16:908-916.
- Heise V, Filippini N, Trachtenberg AJ, Suri S, Ebmeier KP, Mackay CE. Apolipoprotein E genotype, gender and age modulate connectivity of the hippocampus in healthy adults. *Neuroimage.* 2014; 98:23-30.
- Hita-Yañez E, Atienza M, Gil-Neciga E, Cantero JL. Disturbed sleep patterns in elders with mild cognitive impairment: the role of memory decline and ApoE  $\epsilon$ 4 genotype. *Curr Alzheimer Res.* 2012; 9:290-297.
- Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, et al. Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med.* 1998; 4:97-100.
- Holmes AP, Friston KJ. Generalisability, random effects and population inference. *Neuroimage.* 1998; 7:S754.
- Hoppstädter M, King AV, Frölich L, Wessa M, Flor H, Meyer P. A combined electrophysiological and morphological examination of episodic memory decline in amnesic mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci.* 2013; 5:51.
- Horinek D, Varjassyova A, Hort J. Magnetic resonance analysis of amygdalar volume in Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry.* 2007; 20:273-277.
- Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, Yu GQ, Tatsuno G, et al. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96:3228-3233.

- Hsieh LT, Ranganath C. Frontal midline theta oscillations during working memory maintenance and episodic encoding and retrieval. *Neuroimage*. 2014; 85:721-729.
- Hua X, Leow AD, Parikshak N, Lee S, Chiang MC, et al. Tensor-based morphometry as a neuroimaging biomarker for Alzheimer's disease: an MRI study of 676 AD, MCI, and normal subjects. *Neuroimage*. 2008; 43:458-469.
- Huang C, Wahlund L, Dierks T, Juli P, Winblad B, et al. Discrimination of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment by equivalent EEG sources: a cross-sectional and longitudinal study. *Clin Neurophysiol*. 2000; 111:1961-1967.
- Hudon C, Belleville S, Souchay C, Gely-Nargeot MC, Chertkow H, et al. Memory for gist and detail information in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychology*. 2006; 20:566-577.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Brit J Psychiat*. 1982; 140:566-572.
- Huijbers W, Mormino EC, Schultz AP, Wigman S, Ward AM. Amyloid- $\beta$  deposition in mild cognitive impairment is associated with increased hippocampal activity, atrophy and clinical progression. *Brain*. 2015; 138:1023-1035.
- Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2012; 8:1-13.
- Igarashi KM. Plasticity in oscillatory coupling between hippocampus and cortex. *Curr Opin Neurobiol*. 2015; 35:163-168.
- Iglesias JE, Augustinack JC, Nguyen K, Player CM, Player A, et al. A computational atlas of the hippocampal formation using ex vivo, ultra-high resolution MRI: Application to adaptive segmentation of in vivo MRI. *Neuroimage*. 2015; 115:117-137.
- Insausti R, Amaral DG, Cowan WM. The entorhinal cortex of the monkey: III Subcortical afferents. *J Comp Neurol*. 1987; 264:396-408.
- Insel PS, Mattsson N, Donohue MC, Mackin RS, Aisen PS, et al. The transitional association between beta-amyloid pathology and regional brain atrophy. *Alzheimers Dement*. 2015; 11:1171-1179.
- Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso Adel C, Grundke-Iqbal I. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathol*. 2009; 118:53-69.
- Jack CR, Jr, Holtzman DM. Biomarker modeling of Alzheimer's disease. *Neuron*. 2013; 80:1347-1358.
- Jack CR, Jr, Wiste HJ, Weigand SD, Rocca WA, Knopman DS, et al. Age-specific population frequencies of cerebral beta-amyloidosis and neurodegeneration among people with normal cognitive function aged 50-89 years: a cross-sectional study. *Lancet Neurol*. 2014; 13:997-1005.
- Jagust WJ, Mormino EC. Lifespan brain activity,  $\beta$ -amyloid, and Alzheimer's disease. *Trends Cogn Sci*. 2011; 15:520-526.
- Jagust W, Landau S, Shaw L, Trojanowski JQ, Koeppe RA, et al. Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology* 2009; 73:1193-1199.
- Jansen WJ, Ossenkoppele R, Knol DL, Tijms BM, Scheltens P, et al. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis. *JAMA*. 2015; 313:1924-1938.
- Jasper HH. Report of the committee on methods of clinical examination in electroencephalography. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1958; 10:370-371.
- Jelic V, Johansson SE, Almkvist O, Shigeta M, Juli P, et al. Quantitative electroencephalography in mild cognitive impairment: longitudinal changes and possible prediction of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2000; 21:533-540.

- Jelic V, Julin P, Shigeta M, Nordberg A, Lannfelt L, et al. Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 allele decreases functional connectivity in Alzheimer's disease as measured by EEG coherence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997; 63:59-65.
- Jiang S, Qu C, Wang F, Liu Y, Qiao Z, et al. Using event-related potential P300 as an electrophysiological marker for differential diagnosis and to predict the progression of mild cognitive impairment: a meta-analysis. *Neurol Sci*. 2015; 36, 1105-1112.
- Jin SH, Lin P, Hallett M. Reorganization of brain functional small-world networks during finger movements. *Hum Brain Mapp*. 2012; 33:861-672.
- Joachim CL, Mori H, Selkoe DJ. Amyloid beta-protein deposition in tissues other than brain in Alzheimer's disease. *Nature*. 1989; 341:226-230.
- Johnson SC, Baxter LC, Susskind-Wilder L, Connor DJ, Sabbagh MN, et al. Hippocampal adaptation to face repetition in healthy elderly and mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*. 2004; 42:980-989.
- Johnson SC, Schmitz TW, Moritz CH, Meyerand ME, Rowley HA, et al. Activation of brain regions vulnerable to Alzheimer's disease: The effect of mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2006; 27:1604-1612.
- Joubert S, Brambati SM, Ansado J, Barbeau EJ, Felician O, et al. The cognitive and neural expression of semantic memory impairment in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*. 2010; 48:978-988.
- Joubert S, Felician O, Barbeau EJ, Didic M, Poncet M, et al. Patterns of semantic memory impairment in mild cognitive impairment. *Behav Neurol*. 2008; 19.
- Jutras MJ, Buffalo EA. Synchronous neural activity and memory formation. *Curr Opin Neurobiol*. 2010; 20:150-155.
- Katzman R, Terry R, DeTeresa R, Brown T, Davies P, et al. Clinical, pathological, and neurochemical changes in dementia: a subgroup with preserved mental status and numerous neocortical plaques. *Ann Neurol*. 1988; 23:138-144.
- Kawas C, Katzman R. Epidemiology of dementia and Alzheimer disease In: Terry RD, Katzman R, Bick KL, Sisodia SS, (Eds). New York: Alzheimer disease Raven Press; 1999; pp. 95-116.
- Kerchner GA, Berdnik D, Shen JC, Bernstein JD, Fenesy MC, et al. APOE epsilon4 worsens hippocampal CA1 apical neuropil atrophy and episodic memory. *Neurology*. 2014; 82:691-697.
- Ketz NA, Jensen O, O'Reilly RC. Thalamic pathways underlying prefrontal cortex-medial temporal lobe oscillatory interactions. *Trends Neurosci*. 2015; 38:3-12.
- Killiany RJ, Gomez-Isla T, Moss M, Kikinis R, Sandor T, et al. Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2000; 47:430-439.
- Killiany RJ, Hyman BT, Gomez-Isla T, Moss MB, Kikinis R, et al. MRI measures of entorhinal cortex vs hippocampus in preclinical AD. *Neurology*. 2002; 58:1188-1196.
- Kircher TT, Weis S, Freymann K, Erb M, Jessen F, et al. Hippocampal activation in patients with mild cognitive impairment is necessary for successful memory encoding. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007; 78:812-818.
- Klein-Koerkamp Y, Heckemann RA, Ramdeen KT, Moreaud O, Keignart S, et al. Amygdalar atrophy in early Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2014; 11:239-2152.
- Klimesch W, Doppelmayr M, Schimke H, Ripper B. Theta synchronization and alpha desynchronization in a memory task. *Psychophysiology*. 1997; 34:169-176.
- Klimesch W, Schimke H, Doppelmayr M, Ripper B, Schwaiger J, et al. Event-related desynchronization (ERD) and the Dm effect: does alpha desynchronization during encoding predict later recall performance? *Int J Psychophysiol*. 1996; 24:47-60.

- Kluger A, Ferris SH, Golomb J, Mittelman MS, Reisberg B. Neuropsychological prediction of decline to dementia in nondemented elderly. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 1999; 12:168-179.
- Klyubin I, Cullen WK, Hu NW, Rowan MJ. Alzheimer's disease A $\beta$  assemblies mediating rapid disruption of synaptic plasticity and memory. *Mol Brain.* 2012; 5:25.
- Kobayashi Y, Amaral DG. Macaque monkey retrosplenial cortex: II. Cortical afferents. *J Comp Neurol.* 2003; 466:48-79.
- Koepsell TD, Monsell SE. Reversion from mild cognitive impairment to normal or near-normal cognition: risk factors and prognosis. *Neurology.* 2012; 79, 1591-1598.
- Koivunen J, Pirttilä T, Kemppainen N, Aalto S, Herukka SK et al. PET amyloid ligand [11C]PIB uptake and cerebrospinal fluid  $\beta$ -amyloid in mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008; 26:378-383.
- Kok E, Haikonen S, Luoto T, Huhtala H, Goebeler S, et al. Apolipoprotein E-dependent accumulation of Alzheimer disease-related lesions begins in middle age. *Ann Neurol.* 2009; 65, 650-657.
- Kordower JH, Chu Y, Stebbins GT, DeKosky ST, Cochran EJ. Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann Neurol.* 2001; 49:202-213.
- Kowalski JW, Gawel M, Pfeffer A, Barcikowska M. The diagnostic value of EEG in Alzheimer disease: correlation with the severity of mental impairment. *J Clin Neurophysiol.* 2001; 18, 570-575.
- Kral VA. Senescent forgetfulness: benign and malignant. *Can Med Assoc J.* 1962; 86:257-260.
- Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Rep.* 2015; 67:195-203.
- Kumaran D, Hassabis D, McClelland JL. What Learning Systems do Intelligent Agents Need? Complementary Learning Systems Theory Updated. *Trends Cogn Sci.* 2016; 20:512-534.
- Lai F, Williams RS. A prospective study of Alzheimer disease in Down syndrome. *Arch Neurol.* 1989; 46:849-853.
- Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet.* 2009; 41:1094-1099.
- Larrieu S, Letenneur L, Orgogozo JM, Fabrigoule C, Amieva H, et al. Incidence and outcome of mild cognitive impairment in a population-based prospective cohort. *Neurology.* 2002; 59:1594-1599.
- Leal SL, Landau SM, Bell RK, Jagust WJ. Hippocampal activation is associated with longitudinal amyloid accumulation and cognitive decline. *eLife.* 2017; 6:e22978.
- Lee DH, Blomhoff R, Jacobs DR, Jr. Is serum gamma glutamyltransferase a marker of oxidative stress? *Free Radic Res.* 2004; 38:535-539.
- Lee MS, Tsai, LH. Cdk5: one of the links between senile plaques and neurofibrillary tangles?. *J Alzheimers Dis.* 2003; 5:127-137.
- Lehtovirta M, Partanen J, Könönen M, Hiltunen J, Helisalmi S, et al. A longitudinal quantitative EEG study of Alzheimer's disease: relation to apolipoprotein E polymorphism. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2000; 11:29-35.
- Lehtovirta M, Partanen J, Könönen M, Soininen H, Helisalmi S, et al. Spectral analysis of EEG in Alzheimer's disease: Relation to apolipoprotein E polymorphism. *Neurobiol Aging.* 1996; 17:523-526.
- Lekeu F, Magis D, Marique P, Delbeuck X, Bechet S, et al. The California Verbal Learning Test and other standard clinical neuropsychological tests to predict conversion from mild memory impairment to dementia. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2010; 32:164-173.
- Leube DT, Weis S, Freymann K, Erb M, Jessen F, et al. Neural correlates of verbal episodic memory in patients with MCI and Alzheimer's disease--a VBM study. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2008; 23:1114-1118.

- Levy BJ, Wagner AD. Cognitive control and right ventrolateral prefrontal cortex: reflexive reorienting, motor inhibition, and action updating. *Ann N Y Acad Sci.* 2011; 1224:40-62.
- Li W, Antuono PG, Xie C, Chen G, Jones JL. Aberrant functional connectivity in Papez circuit correlates with memory performance in cognitively intact middle-aged APOE4 carriers. *Cortex.* 2014; 57:167-176.
- Lind J, Larsson A, Persson J, Ingvar M, Nilsson LG, et al. Reduced hippocampal volume in non-demented carriers of the apolipoprotein E epsilon4: relation to chronological age and recognition memory. *Neurosci Lett.* 2006; 396:23-27.
- Lindsay J, Laurin D, Verreault R, Hebert R, Helliwell B, et al. Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *Am J Epidemiol.* 2002; 156:445-453.
- Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews: Neurology.* 2013; 9:106-118.
- Liu Y, Paajanen T, Zhang Y, Westman E, Wahlund L-O, et al. Analysis of regional MRI volumes and thicknesses as predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2010; 31:1375-1385.
- Liu Y, Spulber G, Lehtimäki KK, Könönen M, Hallikainen I, et al. Diffusion tensor imaging and tract-based spatial statistics in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging.* 2011; 32:1558-1571.
- Llinás RR. The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science.* 1988; 242:1654-1664.
- Loewenstein DA, Acevedo A, Luis C, Crum T, Barker WW, Duara R. Semantic interference deficits and the detection of mild Alzheimer's disease and mild cognitive impairment without dementia. *J Int Neuropsychol Soc.* 2004; 10:91-100.
- Lopes da Silva F. Neural mechanisms underlying brain waves: from neural membranes to networks. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1991; 79:81-93.
- López ME, Bruna R, Aurtenetxe S, Pineda-Pardo JA, Marcos A, et al. Alpha-band hypersynchronization in progressive mild cognitive impairment: a magnetoencephalography study. *J Neurosci.* 2014; 34:14551-14559.
- López ME, Turrero A, Cuesta P, Lopez-Sanz D, Bruna R, et al. Searching for Primary Predictors of Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease: A Multivariate Follow-Up Study. *J Alzheimer's.* 2016; 52:133-143.
- Lord L-D, Expert P, Huckins JF, Turkheimer FE. Cerebral energy metabolism and the brain's functional network architecture: an integrative review. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013; 33:1347-1354.
- Lu H, Ma SL, Wong SW, Tam CW, Cheng ST, et al. Aberrant interhemispheric functional connectivity within default mode network and its relationships with neurocognitive features in cognitively normal APOE ε4 elderly carriers. *Int Psychogeriatr.* 2017; 29:805-814.
- Luckhaus C, Grass-Kapanke B, Blaeser I, Ihl R, Supprian T, et al. Quantitative EEG in progressing vs stable mild cognitive impairment (MCI): results of a 1-year follow-up study. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2008; 23:1148-1155.
- Machulda MM, Ward HA, Borowski B, Gunter JL, Cha RH, et al. Comparison of memory fMRI response among normal, MCI, and Alzheimer's patients. *Neurology.* 2003 61:500-506.
- MacKinnon DP, Fairchild AJ, Fritz MS. Mediation analysis. *Ann Rev Psychology.* 2007; 58:593-614.
- MacKinnon DP, Lockwood CM, Hoffman JM, West SG, Sheets VA. Comparison of methods to test mediation and other intervening variable effects. *Psychol Methods.* 2002; 7:83-104.

- Maioli F, Coveri M, Pagni P, Chiandetti C, Marchetti C, et al. Conversion of mild cognitive impairment to dementia in elderly subjects: a preliminary study in a memory and cognitive disorder unit. *Arch Gerontol Geriatr.* 2007; 44 Suppl 1:233-241.
- Maldjian JA, Laurienti PJ, Kraft RA, Burdette JH. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *Neuroimage.* 2003; 19:1233-1239.
- Mander BA, Winer JR, Jagust WJ, Walker MP. Sleep: A Novel mechanistic pathway, biomarker, and treatment target in the pathology of Alzheimer's disease? *Trends Neurosci.* 2016; 39:552-566.
- Marcos A, Gil P, Barabash A, Rodriguez R, Encinas M, et al. Neuropsychological markers of progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2006; 21:189-196.
- Marcus EM, Jacobson S. Case history problem solving. In *Integrated Neuroscience.* Springer US. 2003.
- Maris E. Randomization tests for ERP topographies and whole spatiotemporal data matrices. *Psychophysiology.* 2004; 41:142-151.
- Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR. Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol.* 2006; 63:38-46.
- Martínez de la Iglesia J, Onís Vilches MC, Dueñas HR, Albert CC, Aguado TC, Luque LR. Versión española del cuestionario de Yesavage abreviado (GDS) para el despistaje de depresión en mayores de 65 años: adaptación y validación. *Medifam.* 2002; 12:620-630.
- Martins IJ, Hone E, Foster JK, Sunram-Lea SI, Gnjec A, et al. Apolipoprotein E, cholesterol metabolism, diabetes, and the convergence of risk factors for Alzheimer's disease and cardiovascular disease. *Mol Psychiatry.* 2006; 11:721-736.
- Mascalchi M, Ginestroni A, Toschi N, Poggese A, Cecchi P, et al. The burden of microstructural damage modulates cortical activation in elderly subjects with MCI and leuko-araiosis. A DTI and fMRI study. *Hum Brain Mapp.* 2014; 35:819-830.
- Masliah E, Terry R. The role of synaptic proteins in the pathogenesis of disorders of the central nervous system. *Brain Pathol.* 1993; 3:77-85.
- Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's Disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2015; 1-18.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev.* 1995; 102:419-457.
- McGuinness B, Craig D, Bullock R, Malouf R, Passmore P. Statins for the treatment of dementia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014. CD007514.
- McIntosh AR, Bookstein F, Haxby J, Grady C. Spatial pattern analysis of functional brain images using partial least squares. *Neuroimage.* 1996; 3:143-157.
- McKenna F, Koo BB, Killiany R. Comparison of ApoE-related brain connectivity differences in early MCI and normal aging populations: an fMRI study. *Brain Imaging Behav.* 2016; 10:970-983.
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Jr, et al. 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. *Alzheimers Dement.* 2011; 7:263-269.
- Medina D, DeToledo-Morrell L, Urresta F, Gabrieli JD, Moseley M, et al. White matter changes in mild cognitive impairment and AD: A diffusion tensor imaging study. *Neurobiol Aging.* 2006; 27:663-672.
- Mesulam MM. Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles. *Neuron.* 1999; 24:521-529.

- Mesulam MM, Geula C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J Comp Neurol*. 1988; 275:216-240.
- Mikulca JA, Nguyen V, Gajdosik DA, Teklu SG, Giunta EA, et al. Potential novel targets for Alzheimer pharmacotherapy: II Update on secretase inhibitors and related approaches. *J Clin Pharm Ther*. 2014; 39:25-37.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988; 16:1215.
- Miller SL, Fenstermacher E, Bates J, Blacker D, Sperling RA, Dickerson BC. Hippocampal activation in adults with mild cognitive impairment predicts subsequent cognitive decline. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008; 79:630-635.
- Missonnier P, Deiber MP, Gold G, Herrmann FR, Millet P, et al. Working memory load-related electroencephalographic parameters can differentiate progressive from stable mild cognitive impairment. *Neuroscience*. 2007; 150:346-356.
- Mölle M, Marshall L, Fehm HL, Born J. EEG theta synchronization conjoined with alpha desynchronization indicate intentional encoding. *Eur J Neurosci*. 2002; 15:923-928.
- Moretti DV, Frisoni GB, Fracassi C, Pievani M, Geroldi C, et al. MCI patients' EEGs show group differences between those who progress and those who do not progress to AD. *Neurobiol Aging*. 2011; 32:563-571.
- Moretti DV, Miniussi C, Frisoni GB, Geroldi C, Zanetti O, et al. Hippocampal atrophy and EEG markers in subjects with mild cognitive impairment. *Clin Neurophysiol*. 2007; 118:2716-2729.
- Moretti DV, Pievani M, Fracassi C, Binetti G, Rosini S, et al. Increase of theta/gamma and alpha3/alpha2 ratio is associated with amygdalo-hippocampal complex atrophy. *J Alzheimer's Dis*. 2009; 17:349-357.
- Morishima-Kawashima M, Oshima N, Ogata H, Yamaguchi H, Yoshimura M, et al. Effect of apolipoprotein E allele epsilon4 on the initial phase of amyloid beta-protein accumulation in the human brain. *Am J Pathol*. 2000; 157:2093-2099.
- Mormino EC, Betensky RA, Hedden T, Schultz AP, Amariglio RE, et al. Synergistic effect of beta-amyloid and neurodegeneration on cognitive decline in clinically normal individuals. *JAMA Neurol*. 2014; 71:1379-1385.
- Morra JH, Tu Z, Apostolova LG, Green AE, Avedissian C, et al. Automated 3D mapping of hippocampal atrophy and its clinical correlates in 400 subjects with Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and elderly controls. *Hum Brain Mapp*. 2009; 30:2766-2788.
- Morris RGM. D.O. Hebb: The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949. *Brain Res Bull*. 1999; 50:437.
- Morris JC, Roe CM, Xiong C, Fagan AM, Goate AM, et al. APOE predicts amyloid-beta but not tau Alzheimer pathology in cognitively normal aging. *Ann Neurol*. 2010; 67:122-131.
- Moscovitch M, Craik FIM. Depth of processing, retrieval cues, and uniqueness of encoding as factors in recall. *J Verb Learn Verbal Beh*. 1976; 15:447-458.
- Mucke L, Yu GQ, McConlogue L, Rockenstein EM, Abraham CR, Masliah E. Astroglial expression of human alpha(1)-antichymotrypsin enhances alzheimer-like pathology in amyloid protein precursor transgenic mice. *Am J Pathol*. 2000; 157:2003-2010.
- Mudher A, Lovestone S. Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands? *Trends Neurosci*. 2002; 25:22-26.
- Mufson EJ, Counts SE, Perez SE, Ginsberg SD. Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Expert Rev Neurother*. 2008; 8:1703-1718.

- Mulatti C, Calia C, De Caro MF, Della Sala S. The cumulative semantic interference effect in normal and pathological ageing. *Neuropsychologia*. 2014; 65:125-130.
- Murphy KJ, Rich JB, Troyer AK. Verbal fluency patterns in amnesic mild cognitive impairment are characteristic of Alzheimer's type dementia. *J Int Neuropsychol Soc*. 2006; 12:570-574.
- Murphy KJ, Troyer AK, Levine B, Moscovitch M. Episodic, but not semantic, autobiographical memory is reduced in amnesic mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*. 2008; 46:3116-3123.
- Murray EA, Wise SP. What, if anything, is the medial temporal lobe, and how can the amygdala be part of it if there is no such thing?. *Neurobiol Learn Mem*. 2004; 82:178-198.
- Musiek ES, Holtzman DM. Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and 'wingmen'. *Nature Neurosci*. 2015; 800-806.
- Naveh-Benjamin M. Adult age differences in memory performance: tests of an associative deficit hypothesis. *J Exp Psychol-Learn*. 2000; 26:1170-1187.
- Negash S, Bennett DA, Wilson RS, Schneider JA, Arnold SE. Cognition and neuropathology in aging: multidimensional perspectives from the Rush Religious Orders Study and Rush Memory And Aging Project. *Curr Alzheimer Res*. 2011; 8:336-340.
- Nichols TE, Holmes AP. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples *Hum Brain Mapp*. 2002; 15:1-25.
- Nickl-Jockschat T, Kleiman A, Schulz JB, Schneider F, Laird AR, et al. Neuroanatomic changes and their association with cognitive decline in mild cognitive impairment: a meta-analysis. *Brain Struct Funct*. 2012; 217:115-125.
- Nilsson LG, Adolfsson R, Bäckman L, Cruts M, Nyberg L, et al. The influence of APOE status on episodic and semantic memory: data from a population-based study. *Neuropsychology*. 2006; 20:645-657.
- Nunn JA, Graydon FJ, Polkey CE, Morris RG. Differential spatial memory impairment after right temporal lobectomy demonstrated using temporal titration. *Brain*. 1999; 122:47-59.
- Nunomura A, Perry G, Aliev G, Hirai K, Takeda A. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001; 60:759-767.
- Nyhus E, Curran T. Functional role of gamma and theta oscillations in episodic memory. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010; 34:1023-1035.
- O'Brien JL, O'Keefe KM, LaViolette PS, DeLuca AN, Blacker D, et al. Longitudinal fMRI in elderly reveals loss of hippocampal activation with clinical decline. *Neurology*. 2010; 74:1969-1976.
- Oh H, Jagust WJ. Frontotemporal network connectivity during memory encoding is increased with aging and disrupted by beta-amyloid. *J Neurosci*. 2013; 33:18425-18437.
- Okello A, Koivunen J, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, et al. Conversion of amyloid positive and negative MCI to AD over 3 years: an 11C-PIB PET study. *Neurology*. 2009; 73:754-760.
- Olichney JM, Taylor JR, Gatherwright J, Salmon DP, Bressler AJ, et al. Patients with MCI and N400 or P600 abnormalities are at very high risk for conversion to dementia. *Neurology*. 2008; 70:1763-1770.
- Omalu BI, DeKosky ST, Minster RL, Kamboh MI, Hamilton RL, Wecht CH. Chronic traumatic encephalopathy in a National Football League player. *Neurosurgery*. 2005; 57:128-134.
- Oostenveld R, Praamstra P, Stegeman DF, van Oosterom A. Overlap of attention and movement-related activity in lateralized event-related brain potentials. *Clin Neurophysiol*. 2001; 112:477-484.
- Osipova D, Takashima A, Oostenveld R, Fernandez G, Maris, E Jensen O. Theta and gamma oscillations predict encoding and retrieval of declarative memory. *J Neurosci*. 2006; 26:7523-7531.
- Packard PA, Rodríguez-Fornells A, Bunzeck N, Nicolás B, de Diego-Balaguer R, Fuentemilla L. Semantic congruence accelerates the onset of the neural signals of successful memory encoding. *J Neurosci*. 2017; 37:291-301.



- Pajevic S, Basser PJ, Fields RD. Role of myelin plasticity in oscillations and synchrony of neuronal activity. *Neuroscience*. 2014; 276:135-147.
- Paller KA, Wagner AD. Observing the transformation of experience into memory. *Trends Cogn Sci*. 2002; 6:93-102.
- Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, Thwin MT, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*. 2007; 55:697-711.
- Palop JJ, Mucke L. Epilepsy and cognitive impairments in Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2009; 66:435-440.
- Palop JJ, Mucke L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat Neurosci*. 2010; 13:812-818.
- Park DC, Reuter-Lorenz P. The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. *Annu Rev Psychol*. 2009; 60:173-196.
- Pascoal TA, Mathotaarachchi S, Mohades S, Benedet AL, Chung CO, et al. Amyloid-beta and hyperphosphorylated tau synergy drives metabolic decline in preclinical Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*. 2017; 22:306-311.
- Pasquini L, Scherr M, Tahmasian M, Meng C, Myers NE, et al. Link between hippocampus' raised local and eased global intrinsic connectivity in AD. *Alzheimers Dement*. 2015; 11:475-484.
- Pastötter B, Bäuml KH. Distinct slow and fast cortical theta dynamics in episodic memory retrieval. *Neuroimage*. 2014; 94:155-161.
- Patterson K, Nestor PJ, Rogers TT. Where do you know what you know? The representation of semantic knowledge in the human brain. *Nature Rev Neurosci*. 2007; 8:976-987.
- Peña-Ortega F. Amyloid Beta-Protein and Neural Network Dysfunction. *J Neurodegener Dis*. 2013; 2013: 657470.
- Peña-Ortega F, Bernal-Pedraza R. Amyloid Beta Peptide slows down sensory-induced hippocampal oscillations. *Int J Pept*. 2012; 236289.
- Percival DB, Walden AT. *Spectral Analysis for Physical Applications: Multitaper and Conventional Univariate Techniques*. Cambridge; New York, NY, USA: Cambridge University Press. 1993.
- Pernet CR, Wilcox R, Rousselet GA. Robust correlation analyses: false positive and power validation using a new open source matlab toolbox. *Front Psychol*. 2013; 3:606.
- Perri R, Carlesimo GA, Serra L, Caltagirone C. Characterization of memory profile in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2005; 27:1033-1055.
- Perri RM Serra L, Carlesimo GA, Caltagirone C. Amnesic mild cognitive impairment: Difference of memory profile in subjects who converted or did not convert to Alzheimer's disease. Italian Interdisciplinary Network on Alzheimer's Disease Early Diagnosis Group. *Neuropsychology*. 2007; 21:549-558.
- Perri R, Monaco M, Fadda L, Serra L, Marra C, et al. Influence of controlled encoding and retrieval facilitation on memory performance in patients with different profiles of mild cognitive impairment. *J Neurol*. 2015; 262:938-948.
- Perry EK, McKeith I, Thompson P, Marshall E, Kerwin J, et al. Topography, extent, and clinical relevance of neurochemical deficits in dementia of Lewy body type, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1991; 640:197-202.
- Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med*. 2004; 256:183-194.
- Petersen RC, Aisen P, Boeve BF, Geda YE, Ivnik, RJ, et al. Mild cognitive impairment due to Alzheimer disease in the community. *Ann Neurol*. 2013; 74:199-208.

- Petersen RC, Smith GE, Ivnik RJ, Kokmen E, Tangalos EG. Memory function in very early Alzheimer's disease. *Neurology*. 1994; 44:867-872.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*. 1999; 56:303-308.
- Petrella JR, Krishnan S, Slavin MJ, Tran T-TT, Murty L, Doraiswamy PM. Mild cognitive impairment: evaluation with 4-T functional MR imaging. *Radiology*. 2006; 240:177-186.
- Petrella JR, Wang L, Krishnan S, Slavin MJ, Prince SE, et al. Cortical deactivation in mild cognitive impairment: high-field-strength functional MR imaging. *Radiology*. 2007; 245:224-235.
- Pfurtscheller G, Lopes da Silva FH. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol*. 1999; 110:1842-1857.
- Pihlajamäki M, DePeau KM, Blacker D, Sperling RA. Impaired medial temporal repetition suppression is related to failure of parietal deactivation in Alzheimer disease. *Am J Geriatric Psych*. 2008; 16:283-292.
- Pihlajamäki M, Jauhiainen AM, Soininen H. Structural and functional MRI in mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res*. 2009; 6:179-185.
- Pike KE, Savage G, Villemagne VL, Ng S, Moss SA, et al. Beta-amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*. 2007; 130:2837-2844.
- Pimplikar SW. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2009; 41:1261-1268.
- Plant C, Teipel SJ, Oswald A, Böhm C, Meindl T, et al. Automated detection of brain atrophy patterns based on MRI for the prediction of Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2010; 50:162-174.
- Poil S-S, de Haan W, van der Flier WM, Mansvelter HD, Scheltens P, Linkenkaer-Hansen K. Integrative EEG biomarkers predict progression to Alzheimer's disease at the MCI stage. *Front Aging Neurosci*. 2013; 5:58.
- Pons AJ, Cantero JL, Atienza M, Garcia-Ojalvo J. Relating structural and functional anomalous connectivity in the aging brain via neural mass modeling. *Neuroimage*. 2010; 52:848-861.
- Poulin SP, Dautoff R, Morris JC, Barrett LF, Dickerson BC. Amygdala atrophy is prominent in early Alzheimer's disease and relates to symptom severity. *Psychiatry Res*. 2011; 194:7-13.
- Preston AR, Eichenbaum H. Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Curr Biol*. 2013; 23:R764-73.
- Price CJ, Friston KJ. Scanning patients with tasks they can perform. *Hum Brain Mapp*. 1999; 8:102-108.
- Price CJ, Friston KJ. Degeneracy and cognitive anatomy. *Trends Cogn Sci*. 2002; 6:416-421.
- Price JL, Morris JC. Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999; 45:358-368.
- Prichep LS, John ER, Ferris SH, Rausch L, Fang Z, et al. Prediction of longitudinal cognitive decline in normal elderly with subjective complaints using electrophysiological imaging. *Neurobiol Aging*. 2006; 27:471-481.
- Prieto del Val L, Cantero JL, Atienza M. APOE  $\epsilon$ 4 constrains engagement of encoding-related compensatory networks in amnesic mild cognitive impairment. *Hippocampus*. 2015; 25:993-1007.
- Prieto del Val L, Cantero JL, Atienza M. Atrophy of amygdala and abnormal memory-related alpha oscillations over posterior cingulate predict conversion to Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2016; 6:31859.
- Prvulovic D, Van de Ven V, Sack AT, Maurer K, Linden DE. Functional activation imaging in aging and dementia. *Psychiatry Res*. 2005; 140:97-113.

- Putchá D, Brickhouse M, O'Keefe K, Sullivan C, Rentz D, Marshall G, et al. Hippocampal hyperactivation associated with cortical thinning in Alzheimer's disease signature regions in non-demented elderly adults. *J Neurosci*. 2011; 31:17680-17688.
- Qi Z, Wu X, Wang Z, Zhang N, Dong H, et al. Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. *Neuroimage*. 2010; 50:48-55.
- Rami L, Molinuevo JL, Sanchez-Valle R, Bosch B, Villar A. Screening for amnesic mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease with MAT (Memory Alteration Test) in the primary care population. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2007; 22:294-304.
- Reiman EM, Chen K, Liu X, Bandy D, Yu M, et al. Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:6820-6825.
- Reiman EM, Uecker A, Caselli RJ, Lewis S, Bandy D, et al. Hippocampal volumes in cognitively normal persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1998; 44:288-291.
- Reinvang I, Espeseth T, Westlye LT. APOE-related biomarker profiles in non-pathological aging and early phases of Alzheimer's disease. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013; 37:1322-1335.
- Reis J, Portugal AM, Fernandes L, Afonso N, Pereira M, et al. An alpha and theta intensive and short neurofeedback protocol for healthy aging working-memory training. *Front Aging Neurosci*. 2016; 8:157.
- Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Franssen ESE, Kluger A, et al. 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 Dev Res*. 1988; 15:101-114.
- Reuter-Lorenz PA, Park DC. How does it STAC up? Revisiting the scaffolding theory of aging and cognition. *Neuropsychol Rev*. 2014; 24:355-370.
- Ribeiro F, Guerreiro M, De Mendonca A. Verbal learning and memory deficits in Mild Cognitive Impairment. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2007; 29:187-197.
- Ries ML, Schmitz TW, Kawahara-Baccus TN, Torgerson BM, Trivedi MA, Johnson SC. Task-dependent posterior cingulate activation in mild cognitive impairment. *Neuroimage*. 2006; 29:485-492.
- Ritchie K, Artero S, Touchon J. Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology*. 2001; 56:37-42.
- Rocca WA, Cha RH, Waring SC, Kokmen E. Incidence of Dementia and Alzheimer's Disease: A Reanalysis of Data from Rochester, Minnesota, 1975-1984. *Am J Epidemiol*. 1998; 148:51-62.
- Rogers J, Morrison JH. Quantitative morphology and regional and laminar distributions of senile plaques in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 1985; 5:2801-2808.
- Rohn TT. Proteolytic Cleavage of Apolipoprotein E4 as the Keystone for the Heightened Risk Associated with Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2013; 14:14908-14922.
- Rombouts SA, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ, Scheltens P. Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Hum Brain Mapp*. 2005; 26:231-239.
- Rosenblum WI. Why Alzheimer trials fail: removing soluble oligomeric beta amyloid is essential, inconsistent, and difficult. *Neurobiol Aging*. 2014; 35:969-974.
- Rossini PM, Del Percio C, Pasqualetti P, Cassetta E, Binetti G, et al. Conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease is predicted by sources and coherence of brain electroencephalography rhythms. *Neuroscience*. 2006; 143:793-803.
- Rowe CC, Bourgeat P, Ellis KA, Brown B, Lim YY, et al. Predicting Alzheimer disease with  $\beta$ -amyloid imaging: Results from the Australian imaging, biomarkers, and lifestyle study of ageing. *Ann Neurol*. 2013; 74:905-913.
- Rowe CC, Ellis KA, Rimajova M, Bourgeat P, Pike KE, et al. Amyloid imaging results from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle (AIBL) study of aging. *Neurobiol Aging*. 2010; 31:1275-1283.

- Rozzini L, Vicini Chilovi B, Bertolotti E, Conti M, Delrio I, et al. The importance of Alzheimer disease assessment scale-cognitive part in predicting progress for amnesic mild cognitive impairment to Alzheimer disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2008; 21:261-267.
- Sánchez-Benavides G, Gomez-Anson B, Molinuevo JL, Blesa R, Monte GC, et al. Medial temporal lobe correlates of memory screening measures in normal aging, MCI, and AD. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2010; 23:100-108.
- Sánchez-Espinosa MP, Atienza M, Cantero JL. Sleep deficits in mild cognitive impairment are related to increased levels of plasma amyloid-beta and cortical thinning. *Neuroimage.* 2014; 98:395-404.
- Sarazin M, Chauviré V, Gerardin E, Colliot O, Kinkingnéhun S, et al. The amnesic syndrome of hippocampal type in Alzheimer's disease: an MRI study. *J Alzheimers Dis.* 2010; 22:285-294.
- Scheff SW, Price DA, Ansari MA, Roberts KN, Schmitt FA, Ikonovic MD, Mufson EJ. Synaptic change in the posterior cingulate gyrus in the progression of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2015; 43:1073-1090.
- Scheller E, Minkova L, Leitner M, Kloppel S. Attempted and successful compensation in preclinical and early manifest neurodegeneration - a review of task fMRI studies. *Front Psychiatry.* 2014; 5:132.
- Schiff SJ. Dangerous phase. *Neuroinformatics.* 2005; 3:315-318.
- Schmidt-Wilcke T, Poljansky S, Hierlmeier S, Hausner J, Ibach B. 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.* 2009; 47:1914-1920.
- Schwindt GC, Black SE. Functional imaging studies of episodic memory in Alzheimer's disease: a quantitative meta-analysis *Neuroimage.* 2009; 45:181-190.
- Sederberg PB, Gauthier LV, Terushkin V, Miller JF, Barnathan JA, Kahana MJ. Oscillatory correlates of the primacy effect in episodic memory. *Neuroimage.* 2006; 32:1422-1431.
- Sederberg PB, Kahana MJ, Howard MW, Donner EJ, Madsen JR. Theta and gamma oscillations during encoding predict subsequent recall. *J Neurosci.* 2003; 23:10809-10814.
- Segonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage.* 2004; 22:1060-1075.
- Seidenberg M, Guidotti L, Nielson KA, Woodard JL, Durgerian S, et al. Semantic knowledge for famous names in mild cognitive impairment. *J Int Neuropsychol Soc.* 2009; 15:9-18.
- Sekihara K, Nagarajan SS, Poeppel D, Marantz A, Miyashita Y. Application of an MEG eigenspace beamformer to reconstructing spatio-temporal activities of neural sources. *Hum Brain Mapp.* 2002; 15:199-215.
- Sekihara K, Nagarajan SS, Poeppel D, Marantz A. Asymptotic SNR of scalar and vector minimumvariance beamformers for neuromagnetic source reconstruction. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2004; 51:1726-1734.
- Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron.* 1991; 6:487-498.
- Selkoe DJ. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behav Brain Res.* 2008; 192:106-113.
- Selnes P, Aarsland D, Bjornerud A, Gjerstad L, Wallin A, et al. Diffusion tensor imaging surpasses cerebrospinal fluid as predictor of cognitive decline and medial temporal lobe atrophy in subjective cognitive impairment and mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis.* 2013; 33:723-736.
- Sengupta U, Nilson AN, Kaye R. The Role of Amyloid- $\beta$  Oligomers in Toxicity, Propagation, and Immunotherapy. *Ebiomedicine.* 2016; 6:42-49.
- Seo SW, Lee JM, Im K, Park JS, Kim SH, et al. Cortical thinning related to periventricular and deep white matter hyperintensities. *Neurobiol Aging.* 2012; 33:1156-1167.

- Seo EH, Kim SH, Park SH, Kang SH, Choo IH. Independent and Interactive Influences of the APOE Genotype and Beta-Amyloid Burden on Cognitive Function in Mild Cognitive Impairment. *J Korean Med Sci.* 2016; 31:286-295.
- Sepulcre J, Sabuncu MR, Becker A, Sperling R, Johnson KA. In vivo characterization of the early states of the amyloid-beta network. *Brain.* 2013; 136:2239-2252.
- Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological Alterations in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2011; 1:a006189
- Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, et al. The antibody aducanumab reduces A $\beta$  plaques in Alzheimer's disease. *Nature.* 2016; 537:50-56.
- Shaffer JL, Petrella JR, Sheldon FC, Choudhury KR, Calhoun VD, et al. Predicting cognitive decline in subjects at risk for Alzheimer disease by using combined cerebrospinal fluid, MR imaging, and PET biomarkers. *Radiology.* 2013; 266:583-591.
- Shankar GM, Walsh DM. Alzheimer's disease: synaptic dysfunction and Abeta. *Mol Neurodegener.* 2009; 4:48.
- Shulman A. Memory for words recently classified. *Mem Cog.* 1974; 2:47-52.
- Simon SS, Yokomizo JE, Bottino CM. Cognitive intervention in amnesic Mild Cognitive Impairment: a systematic review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012; 36:1163-1178.
- Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet.* 1985; 37:268-285.
- Sisodia SS. Beta-amyloid precursor protein cleavage by a membrane-bound protease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89:6075-6079.
- Sloane JA, Pietropaolo MF, Rosene DL, Moss MB, Peters A, et al. Lack of correlation between plaque burden and cognition in the aged monkey. *Acta Neuropathol.* 1997; 94:471-478.
- Small SA, Duff K. Linking Abeta and tau in late-onset Alzheimer's disease: a dual pathway hypothesis. *Neuron.* 2008; 60:534-542.
- Smith GE, Bohac DL, Waring SC, Kokmen E, Tangalos EG, et al. Apolipoprotein E genotype influences cognitive 'phenotype' in patients with Alzheimer's disease but not in healthy control subjects. *Neurology.* 1998; 50:355-362.
- Snodgrass JG, Corwin J. Pragmatics of measuring recognition memory: applications to dementia and amnesia *J Exp Psychol Gen.* 1988; 117:34-50 .
- Sobel ME. Asymptotic confidence intervals for indirect effects in structural equation models. In S Leinhardt (Ed). *Sociological methodology.* San Francisco: Jossey-Bass; 1982; pp. 290-312.
- Sorg C, Riedl V, Perneczky R, Kurz A, Wohlschlagel AM. Impact of Alzheimer's disease on the functional connectivity of spontaneous brain activity. *Curr Alzheimer Res.* 2009; 6:541-553.
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011; 7:280-292.
- Sperling RA, Dickerson BC, Pihlajamaki M, Vannini P, LaViolette PS, et al. Functional alterations in memory networks in early Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med.* 2010; 12:27-43.
- Sperling, RA, Laviolette, PS, O'Keefe, K, O'Brien, J, Rentz, DM, et al. Amyloid deposition is associated with impaired default network function in older persons without dementia. *Neuron.* 2009; 63:178-188.
- Staresina BP, Gray JC, Davachi L. Event Congruency Enhances Episodic Memory Encoding through Semantic Elaboration and Relational Binding. *Cereb Cortex.* 2009; 19:1198-1207.
- Stein JL, Wiedholz LM, Bassett DS, Weinberger DR, Zink CF. A validated network of effective amygdala connectivity. *Neuroimage.* 2007; 36:736-745.

- Steriade M, Timofeev I, Grenier F. Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol.* 2001; 85:1969-1985.
- Stern Y. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2012; 11:1006-1012.
- Summerfield C, Mangels JA. Coherent theta-band EEG activity predicts item-context binding during encoding. *Neuroimage.* 2005; 24:692-703.
- Summerfield C, Mangels JA. Dissociable neural mechanisms for encoding predictable and unpredictable events. *J Cognitive Neurosci.* 2006; 18:1120-1132.
- Suzuki WA, Amaral DG. Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cortical afferents. *J Comp Neurol.* 1994; 350:497-533.
- Tabert MH, Manly JJ, Liu X, Pelton GH, Rosenblum S, et al. Neuropsychological prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *Arch Gen Psychiatry.* 2006; 63:916-924.
- Taconnat L, Baudouin A, Fay S, Clarys D, Vanneste S, et al. Aging and implementation of encoding strategies in the generation of rhymes: the role of executive functions. *Neuropsychology.* 2006; 20:658-665.
- Tahmasian M, Pasquini L, Scherr M, Meng C, Förster S, et al. The lower hippocampus global connectivity, the higher its local metabolism in Alzheimer disease. *Neurology.* 2015; 84:1956-1963.
- Takashima A, Honda T, Yasutake K, Michel G, Murayama O, et al. Activation of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3beta by amyloid beta peptide (25-35) enhances phosphorylation of tau in hippocampal neurons. *Neurosci Res.* 1998; 31:317-323.
- Talairach J, Tournoux P. *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain.* Thieme Medical Publishers. New York. 1988.
- TEA SA. WAIS-III: Escala de inteligencia de Wechsler para Adultos Tercera versión [WAIS-III: Wechsler adult Intelligence scale Third version]. Madrid: TEA. 1999.
- Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, et al. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol.* 1991; 30:572-580.
- Thal DR, Rub U, Orantes M, Braak H. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology.* 2002; 58:1791-1800.
- Carazo ET, Blanco MN. Abordaje diagnóstico y terapéutico de la demencia en atención primaria. *SEMERGEN-Medicina de Familia.* 2001; 27:575-586.
- Tierney MC, Szalai JP, Snow WG, Fisher RH. The prediction of Alzheimer disease: the role of patient and informant perceptions of cognitive deficits. *Arch Neurol.* 1996; 53:423-427.
- Tierney MC, Yao C, Kiss A, McDowell I. Neuropsychological tests accurately predict incident Alzheimer disease after 5 and 10 years. *Neurology.* 2005; 64:1853-1859.
- Tokuda T, Ikeda S, Yanagisawa N, Ihara Y, Glenner GG. Re-examination of ex-boxers' brains using immunohistochemistry with antibodies to amyloid beta-protein and tau protein. *Acta Neuropathol.* 1991; 82:280-285.
- Tononi G, Sporns O, Edelman GM. Measures of degeneracy and redundancy in biological networks. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96:3257-3262.
- Tosun D, Schuff N, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW. Relationship between CSF biomarkers of Alzheimer's disease and rates of regional cortical thinning in ADNI data. *J Alzheimers Dis.* 2011; 26:77-90.
- Tran TT, Speck CL, Pisupati A, Gallagher M, Bakker A. Increased hippocampal activation in ApoE-4 carriers and non-carriers with amnesic mild cognitive impairment. *NeuroImage Clin.* 2017; 13:237-245.

- Treves A, Rolls ET. Computational constraints suggest the need for two distinct input systems to the hippocampal CA3 network. *Hippocampus*. 1992; 2:189-199.
- Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Craik FIM, Moscovitch et al. Associative recognition in mild cognitive impairment: Relationship to hippocampal volume and apolipoprotein E. *Neuropsychologia*. 2012; 50:3721-3728.
- Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Moscovitch M, Craik FI. Changing everyday memory behaviour in amnesic mild cognitive impairment: a randomised controlled trial. *Neuropsychol Rehabil*. 2008; 18:65-88.
- Tulving E. Episodic and semantic memory. In *Organization of Memory*. London: Academic. 1972; 381:382-404.
- Tuminello ER, Han SD. The apolipoprotein e antagonistic pleiotropy hypothesis: review and recommendations. *Int J Alzheimer's Dis*. 2011; 726197.
- Van Cott AC, Brenner PR. EEG and dementia. In Niedermeyer E, da Silva FL (Eds). In *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Lippincott Williams & Wilkins; 2005; pp 365-378.
- Van Veen BD, van Drongelen W, Yuchtman M, Suzuki A. Localization of brain electrical activity via linearly constrained minimum variance spatial filtering. *IEEE Trans Biomed Eng*. 1997; 44:867-880.
- Verghese PB, Castellano JM, Garai K, Wang Y, Jiang H, et al. ApoE influences amyloid-beta (A $\beta$ ) clearance despite minimal apoE/A $\beta$  association in physiological conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013; 110:E1807-1816.
- Villette V, Poindessous-Jazat F, Simon A, Lena C, Roullot E, et al. Decreased rhythmic GABAergic septal activity and memory-associated theta oscillations after hippocampal amyloid-beta pathology in the rat. *J Neurosci*. 2010; 30:10991-11003.
- Vincent L, Soille P. Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*. 1991; 13:583-598.
- Vos SJ, Xiong C, Visser PJ, Jasielec MS, Hassenstab J, et al. Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol*. 2013; 12:957-965.
- Voss JL, Paller KA. Fluent conceptual processing and explicit memory for faces are electrophysiologically distinct. *J Neurosci*. 2006; 26:926-933.
- Voss JL, Reber PJ, Mesulam M-M, Parrish TB, Paller KA. Familiarity and Conceptual Priming Engage Distinct Cortical Networks. *Cereb Cortex*. 2008; 18:1712-1719.
- Wager TD, Davidson ML, Hughes BL, Lindquist MA, Ochsner KN. Prefrontal-subcortical pathways mediating successful emotion regulation. *Neuron*. 2008; 59:1037-1050.
- Wagner AD, Shannon BJ, Kahn I, Buckner RL. Parietal lobe contributions to episodic memory retrieval. *Trends in cognitive sciences*. 2005; 9:445-453.
- Walsh DM, Klyubin I, Fadeeva JV, Cullen WK, Anwyl R, et al. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*. 2002; 416:535-539.
- Walsh DM, Selkoe DJ. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron*. 2004; 44:181-193.
- Walsh CM, Wilkins S, Bettcher BM, Butler CR, Miller BL, Kramer JH. Memory consolidation in aging and MCI after 1 week. *Neuropsychology*. 2014; 28:273-280.
- Wang P, Li J, Li HJ, Huo L, Li R. Mild Cognitive Impairment Is Not "Mild" at All in Altered Activation of Episodic Memory Brain Networks: Evidence from ALE Meta-Analysis. *Front Aging Neurosci*. 2016; 8:260.
- Wang L, Zang Y, He Y, Liang M, Zhang X, et al. Changes in hippocampal connectivity in the early stages of Alzheimer's disease: evidence from resting state fMRI. *Neuroimage*. 2006; 31:496-504.

- Weiner MW. Dementia in 2012: Further insights into Alzheimer disease pathogenesis. *Nat Rev Neurol*. 2013; 9:65-66.
- Weinstein D, Zhukov L, Johnson C. Lead field basis for fem source localization. In *Frontiers in Simulation, Simulations technique 18th Symposium*. 1999.
- Whitehair DC, Sherzai A, Emond J, Raman R, Aisen PS, et al. Influence of Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 on rates of cognitive and functional decline in mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement*. 2010; 6:412-419.
- Whitwell JL, Shiung MM, Przybelski SA, Weigand SD, Knopman DS, et al. MRI patterns of atrophy associated with progression to AD in amnesic mild cognitive impairment. *Neurology*. 2008; 70:512-520.
- Willers IF, Feldman ML, Allegri RF. Subclinical naming errors in mild cognitive impairment: A semantic deficit? *Dement Neuropsychol*. 2008; 2:217-222.
- Wilsch A, Obleser J. What works in auditory working memory? A neural oscillations perspective. *Brain Res*. 2016; 1640(Pt B):193-207.
- Wishart HA, Saykin AJ, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, et al. Increased brain activation during working memory in cognitively intact adults with the APOE epsilon4 allele. *Am J Psychiatry*. 2006; 163:1603-1610.
- Wolk DA, Manning K, Kliot D, Arnold SE. Recognition memory in amnesic-mild cognitive impairment: insights from event-related potentials. *Front Aging Neurosci*. 2013; 5:89.
- Woodard JL, Seidenberg M, Nielson KA, Antuono P, Guidotti L, et al. Semantic memory activation in amnesic mild cognitive impairment. *Brain*. 2009; 132:2068-2078.
- Xu WL, Caracciolo B, Wang HX, Santoni G, Winblad B, Fratiglioni L. Accelerated progression from mild cognitive impairment to dementia among APOE  $\epsilon$ 4 $\epsilon$ 4 carriers. *J Alzheimers Dis*. 2013; 33:507-515.
- Xu W, Fitzgerald S, Nixon RA, Levy E, Wilson DA. Early hyperactivity in lateral entorhinal cortex is associated with elevated levels of A $\beta$ PP metabolites in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Exp Neurol*. 2015; 264:82-91.
- Yang J, Pan P, Song W, Huang R, Li J, et al. Voxelwise meta-analysis of gray matter anomalies in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment using anatomic likelihood estimation. *J Neurol Sci*. 2012; 316:21-29.
- Yonelinas AP, Hopfinger JB, Buonocore MH, Kroll NEA, Baynes K. Hippocampal, parahippocampal and occipital-temporal contributions to associative and item recognition memory: an fMRI study. *Neuroreport*. 2001; 12:359-363.
- Zahs KR, Ashe KH.  $\beta$ -Amyloid oligomers in aging and Alzheimer's disease. *Fronti Aging Neurosci*. 2013; 5:28.
- Zannis VI, Breslow JL, Utermann G, Mahley RW, Weisgraber KH, et al. Proposed nomenclature of apoE isoproteins, apoE genotypes, and phenotypes. *J Lipid Res*. 1982; 23:911-914.
- Zhao Y, Kuo T-C, Weir S, Kramer MS, Ash AS. Healthcare costs and utilization for Medicare beneficiaries with Alzheimer's. *BMC Health Serv Res*. 2008; 8:108-108.
- Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED, Growdon ME, Jang JY, et al. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain*. 2010; 133:1352-1367.
- Zhuang L, Sachdev PS, Trollor JN, Reppermund S, Kochan NA, Brodaty H, Wen W. Microstructural white matter changes, not hippocampal atrophy, detect early amnesic mild cognitive impairment. *PloS one*. 2013; 8:e58887.



***ANEXOS***

---



## APOE $\epsilon 4$ Constrains Engagement of Encoding-Related Compensatory Networks in Amnesic Mild Cognitive Impairment

Laura Prieto del Val, Jose L. Cantero, and Mercedes Atienza\*

**ABSTRACT:** People with amnesic mild cognitive impairment (aMCI), compared to healthy older adults (HO), benefit less from semantic congruent cues during episodic encoding. The presence of the apolipoprotein E (APOE)  $\epsilon 4$  makes this congruency benefit smaller, but the neural correlates of this deficit are unknown. Here, we estimated the source generators of EEG oscillatory activity associated with successful encoding of face-location associations preceded by semantically congruent and incongruent cues in HO ( $N=26$ ) and aMCI subjects ( $N=34$ ), 16 of which were  $\epsilon 4$  carriers ( $\epsilon 4^+$ ) and 18  $\epsilon 4$  noncarriers ( $\epsilon 4^-$ ). Source estimation was performed in those spectrotemporal windows where the power of low-alpha, high-alpha, and beta oscillatory activity differed either between congruent and incongruent faces or between groups. Differences in high-alpha and beta-oscillatory dynamics indicated that aMCI  $\epsilon 4^+$  are unable to activate lateral regions of the temporal lobe involved in associative memory and congruency benefit in HO. Interestingly, and regardless of APOE genotype, aMCI activated additional regions relative to HO, through alpha oscillations. However, only activation in a distributed fronto-temporo-parietal network in  $\epsilon 4$  noncarriers was paralleled by enhanced memory. On the contrary, the redundant prefrontal activation shown by aMCI  $\epsilon 4^+$  did not prevent performance from decreasing. These results indicate that the effect of aMCI-related degeneracy on functional networks is constrained by the presence of APOE  $\epsilon 4$ . Whereas individuals with aMCI  $\epsilon 4^-$  activate attentional, perceptual and semantic compensatory networks, aMCI  $\epsilon 4^+$  show reduced processing efficiency and capacity. © 2015 Wiley Periodicals, Inc.

**KEY WORDS:** amnesic mild cognitive impairment; APOE  $\epsilon 4$ ; associative memory; brain oscillations; semantic memory

### INTRODUCTION

Mild cognitive impairment (MCI) is a heterogeneous syndrome that eventually represents the transition between normal aging and Alzheimer disease (AD), especially if memory is the cognitive function

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

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

Grant sponsors: Spanish Ministry of Economy and Competitiveness; Grant number: PSI2011-24922 and SAF2011-25463; Grant sponsor: Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise; Grant sponsor: Junta de Andalucía; Grant number: P12-CTS-2327, and Grant sponsor: CIBERNED; CB06/05/1111.

\*Correspondence to: Mercedes Atienza, Ph.D., Laboratory of Functional Neuroscience, Pablo de Olavide University, Ctra. de Utrera Km 1, 41013-Seville, Spain. E-mail: matirui@upo.es

Accepted for publication 17 January 2015.

DOI 10.1002/hipo.22422

Published online 23 January 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

most affected (Tabert et al., 2006; Espinosa et al., 2013). Individuals of the amnesic MCI (aMCI) subtype show impairments in associative memory above and beyond the known impairments in item memory (Troyer et al., 2008), which has been attributed to early insults of mesiotemporal regions (Mayes et al., 2007). Unfortunately, executive function and semantic processing resources have only small effect in reducing this memory loss. For instance, while healthy older (HO) adults show enhanced memory for information that is congruent with their pre-existing semantic knowledge (Crespo-García et al., 2012), such a benefit seems not to be evident in aMCI (Petersen et al., 1999; Perri et al., 2005). This is not surprising considering that the cerebral regions involved in semantic processing (Binder et al., 2009) are also susceptible to early amyloid-beta ( $A\beta$ ) deposition (e.g., Buckner et al., 2005), one of the major hallmarks of AD.

Accumulation and aggregation of toxic  $A\beta$  in the form of senile plaques is more common in carriers of the  $\epsilon 4$  allele of the apolipoprotein E (APOE) gene (Schmechel, 1993). The APOE  $\epsilon 4$  is the strongest risk factor for late-onset AD (Corder et al., 1993) and is more prevalent in aMCI than in healthy aging (Pa et al., 2009). Consequently, aMCI  $\epsilon 4$  carriers experience more AD pathology, worse memory performance and higher risk of progression to AD than noncarriers (Liu et al., 2013). In line with these findings, we have previously shown that the reduced capacity of aMCI individuals to benefit from semantic congruent cues at encoding is particularly remarkable in those who harbour APOE  $\epsilon 4$  (Atienza et al., 2011a). However, at the neural level, little is known about the mechanisms underpinning the lack of congruency benefit in these individuals. We hypothesize that differences in the ability to produce appropriate neural compensatory responses might be behind differences in the cognitive phenotype.

This hypothesis relies on previous studies showing that cognitively normal young and middle-aged carriers of the APOE  $\epsilon 4$  genotype, compared to noncarriers, exhibit reduced gray matter (Alexander et al., 2012) and hypometabolism (Reiman et al., 1996, 2004; Protas et al., 2013) in a network spanning dorsolateral and medial prefrontal, lateral temporal, and parietal cortices. The impact of APOE  $\epsilon 4$  on brain structure and function may account

TABLE 1.

*Demographics, Cognitive Profile, and APOE ε4 Distribution in the aMCI Group*

	HO (N = 26)	aMCI (N = 34)	<i>t</i>	<i>P</i>	aMCI ε4 <sup>-</sup> (n = 18)	aMCI ε4 <sup>+</sup> (n = 16)	<i>t</i>	<i>P</i>
Age, yr	66.7 ± 4.9	69.0 ± 6.7	-1.44	0.1	67.6 ± 7.5	70.5 ± 5.6	-1.15	0.2
Gender (F/M)	13/13	22/12	1.31 <sup>♦</sup>	0.2	15/3	7/9	6.64 <sup>♦</sup>	0.01*
Education, yr	7.2 ± 4.3	7.5 ± 5.5	-0.20	0.8	7.2 ± 4.9	7.8 ± 6.4	-0.57	0.7
CDR (sum of boxes)	0	0.5	N/A	N/A	0.5	0.5	N/A	N/A
MMSE	28.3 ± 1.3	26.8 ± 2.4	2.95	0.005*	27.1 ± 2.4	26.0 ± 2.5	1.06	0.3
Immediate recall	14.3 ± 3.0	9.7 ± 2.6	6.27	0.001*	10.6 ± 2.3	8.6 ± 2.5	2.23	0.02*
Delayed recall	13.2 ± 2.8	6.5 ± 3.6	7.67	0.001*	7.3 ± 3.7	5.5 ± 3.4	1.50	0.1

Notes: ± SD (standard deviation). yr = years; F/M = female / male; CDR (Clinical Dementia Rating); CDR = 0 no dementia, CDR = 0.5 questionable or very mild dementia; MMSE = mini-mental state examination; <sup>♦</sup>χ<sup>2</sup>; \**P* < 0.05; N/A = not applicable.

for both enhanced activity in medial temporal lobes and for increased functional connectivity between frontal and temporal regions (Bookheimer et al., 2000; Bondi et al., 2005; Filippini et al., 2009; Dennis et al., 2010). Such changes in neural efficiency have been interpreted as a form of neural compensation to maintain an equivalent level of performance to that of noncarriers. However, the overuse of neural compensatory mechanisms in early adulthood might indirectly potentiate Aβ production, as Aβ levels are strongly regulated by neuronal activity (Cirrito et al., 2005; Bero et al., 2011); which, in turn, could diminish the functional capacity of the brain to compensate for the reduced efficiency produced by AD pathology in medial regions of the temporal lobe (Alexander et al., 2012). Then, a reduction of processing capacity could explain why associative memory in aMCI ε4 carriers does not improve under conditions of semantic congruency.

To test this hypothesis, we have chosen to analyze cortical sources of EEG oscillations not only because they allow the study of direct neural correlates of memory processes with a high temporal resolution, but also because most studies conducted in healthy aging with functional magnetic resonance imaging (fMRI) during encoding of episodic memories have provided APOE ε4-related results that are inconsistent in the direction and location of change (Trachtenberg et al., 2012). In this study, we have analyzed cortical sources of EEG oscillations during successful encoding of face-location associations preceded by semantically congruent and incongruent cues in HO adults and aMCI carriers (ε4<sup>+</sup>) and noncarriers (ε4<sup>-</sup>) of APOE ε4. Given that successful episodic encoding is associated with theta power increases and alpha/beta power decreases under semantically congruent conditions in the young (Hanslmayr et al., 2009; Crespo-Garcia et al., 2010; Atienza et al., 2011b) and cognitively normal older adults (Crespo-Garcia et al., 2012), these same brain oscillations will be the focus of the present study. Based on prior results (Atienza et al., 2011a), we would expect that aMCI, particularly APOE ε4<sup>+</sup>, benefit less from semantic congruency than HO adults. Although both carriers and noncarriers are expected to show reduced processing efficiency (Clement and Belleville, 2010),

we hypothesize that only noncarriers will compensate for their memory impairments.

## MATERIALS AND METHODS

### Subjects

Twenty-six HO and 34 aMCI subjects between the ages of 51 and 78 years with normal or corrected-to-normal vision participated in this study. Participants were primarily recruited from older people's associations, normal community health screening, and hospital outpatient services. Demographic characteristics and cognitive profile are shown in Table 1. All participants gave informed consent to the experimental protocol approved by the Ethical Committee for Human Research at the University Pablo de Olavide according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki.

Individuals with aMCI showed an idiopathic amnesic disorder with absence of impairment in cognitive areas other than memory as revealed by neuropsychological testing. They further met the diagnostic criteria of aMCI proposed by Petersen et al. (1999): (i) subjective memory complaints corroborated by the informant; (ii) objective memory loss confirmed by the Spanish version of the Logical Memory subtest extracted from the Wechsler Memory Scale-Third Edition (Wechsler, 2004) (scorings 1.5 standard deviations below the age-appropriate mean); (iii) global score of 0.5 (questionable dementia) in the clinical dementia rating (CDR; Hughes et al., 1982); (iv) normal independence function, judged both clinically and by means of the interview for deterioration in daily living activities validated in the Spanish population (Böhm et al., 1998); and (v) no DSM-IV criteria for dementia. The global cognitive status was assessed using the Spanish version of the mini-mental state examination (MMSE; Lobo et al., 1979). Depression was excluded with the shorter version of the Geriatric Depression Scale (Yesavage et al., 1983). Inclusion criteria for HO subjects were: (i) absence of cognitive impairment (memory, language,

attention, and executive function) confirmed by neuropsychological testing; (ii) CDR global score of 0 (no dementia); and (iii) normal independent function. Depression symptoms were excluded by using the same criteria as for aMCI subjects. HO and aMCI participants were tested with the same neuropsychological battery: Boston Naming Test, Trail Making Test, Rey-Osterrieth Complex Figure Test, Visual Object and Space Perception Battery, verbal fluency and word list (Wechsler Memory Scale).

Cerebral MRI was previously examined in all participants to rule out lesions such as territorial cerebral infarction, brain tumor, hippocampal sclerosis, and/or vascular malformations. Those participants with periventricular and/or deep white matter lesions, as revealed by scores  $\geq 2$  on the Fazekas ischemic scale (Fazekas et al., 1987) were not included in the study. Individuals with a history of stroke and/or significant cerebrovascular conditions, clinically significant sensory impairment, neurological conditions such as epilepsy, traumatic brain injury, past or current alcohol abuse, or those consuming medication known to affect memory, were not allowed to participate. None of the participants were taking cholinesterase inhibitors, and/or psychiatric medication at the time of recruiting or during the study. The absence of secondary causes of cognitive deficits was assessed by laboratory tests including complete blood count, blood chemistry, vitamin B12/folate, and thyroid function.

### Experimental Paradigm

The experimental paradigm used to assess associative memory has been described elsewhere (e.g., Atienza et al., 2011b). Briefly, during the study phase (biographical matching task), participants were provided with semantic cues for 1,500 ms (biographical information of famous people) immediately before presenting a famous or nonfamous face into a spatial location for another 1,500 ms. The semantic cue could be either congruent or incongruent with the face. Subjects were instructed to indicate whether or not the face matched the biographical cue via button pressing, with no overt attempts at memorizing the location of faces (incidental encoding). After the study phase, participants performed a conceptual priming task, where all faces were presented in the same position as in the study phase, but this time they were not preceded by biographical cues. Participants were asked to identify as accurately and quickly as possible whether a face corresponded to a famous or nonfamous individual. If all subjects showed conceptual priming, we ensured that all participants were able to automatically access semantic information. 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 required to identify as quickly and accurately as possible whether or not they matched the previous location. As long as congruent semantic processing is advantageous for episodic encoding, location of

semantically congruent faces (SCF) will be remembered better than position of incongruent faces.

### APOE Genotyping

Genomic DNA was isolated from blood using a standard salting-out protocol (Miller et al., 1988), and APOE polymorphisms were determined with predesigned TaqMan SNP genotyping assays (Applied Biosystem). The presence/absence of the APOE  $\epsilon 4$  allele was not employed as an inclusion criterion during the recruiting process.

### Behavioral Analyses

Mean reaction time (RT) was calculated for correct responses to intact and rearranged face-spatial location associations (hits and correct rejections, respectively). Responses faster than 300 ms and slower than 2,500 ms were excluded from further analyses. Recognition performance measurements of accuracy ( $d'$ ) were derived from signal detection theory. This index was computed not only for SCF and semantically incongruent faces (SIF) separately but also for the combination of SCF and SIF to obtain a measurement of global episodic memory for famous faces (*associative  $d'$* ). We also computed an index that quantifies the congruency benefit as revealed by differences in  $d'$  between semantically congruent and incongruent faces (*semantic  $d'$* ). In all cases,  $d'$  resulted from subtracting the  $z$ -score for the false alarm rate from the  $z$ -score for the hit rate.

The influence of semantic relatedness on accuracy and RT was evaluated by two-way mixed analyses of covariance (ANCOVA) with semantic cue (SCF vs. SIF) as the within-subject factor, group (HO vs. aMCI; or aMCI  $\epsilon 4^-$  vs. aMCI  $\epsilon 4^+$ ; HO vs. aMCI  $\epsilon 4^-$  vs. aMCI  $\epsilon 4^+$ ) as the within-subject factor, and age as covariate. The Mauchly's  $W$  was computed to check for violations of the sphericity assumption, and the Greenhouse-Geisser correction was applied when appropriate. Homogeneity of variance was evaluated with the Levene test. Main and interaction effects were evaluated by pair-wise comparisons ( $t$ -tests) and  $P$ -values were adjusted for multiple comparisons by applying the Bonferroni procedure.

The same statistical approach was used to analyze results derived from the conceptual priming task.

### EEG Recordings and Signal Preprocessing

EEG recordings were obtained from 59 scalp electrodes referenced to linked-mastoids, and positioned according to the extended International 10–20 system (Fp1, Fp2, AF7, AF3, AFz, AF4, AF8, F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8, T7, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, T8, TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8, PO7, PO3, POz, PO4, PO8, O1, O2). Additional electrodes were placed for monitoring vertical-horizontal eye movements and the muscular tone. Skin-electrode impedances were maintained below 5  $K\Omega$  in EEG sensors. All electrophysiological variables were amplified (BrainAmp MR, Brain Vision®), filtered (0.1–100

Hz bandpass), digitized (250 Hz, 16-bit resolution), and stored in digital format for subsequent analysis. EEG epochs were transformed into the common average reference to partially avoid pernicious effects of reference (Schiff, 2005). Ocular and muscle artifacts were removed by applying Independent Component Analysis (Infomax algorithm), as implemented in the BrainVision Analyzer software v. 1.05 (Brain Products® GmbH). The remaining noisy epochs were manually selected and excluded from further analyses. We only analyzed those trials of the study phase containing the famous face-location pairs that were later remembered (hits and correct rejections) in the visuospatial association task (nonfamous faces were excluded from the analysis), although for each subject we analyzed the same number of trials per congruence condition.

### Time-Frequency EEG Analysis

The Fieldtrip toolbox (<http://fieldtrip.fcdonders.nl/>) was used to calculate baseline-corrected time-frequency representations (TFR) of spectral power across trials for each group and semantic condition (Oostenveld et al., 2011). We applied the multitaper method to frequencies from 2 to 25 Hz using a wavelet transform of six cycles (Percival and Walden, 1993). To obtain task-related TFR of power decreases/increases relative to baseline, power values ( $P$ ) for each individual frequency ( $f$ ) were normalized in all time points ( $t$ ) as follows:

$$\left[ \frac{P(tf) - P(f)_{\text{baseline}}}{P(f)_{\text{baseline}}} \right]$$

where  $P(f)_{\text{baseline}}$  represents the mean EEG power for a particular frequency bin within the baseline period, defined from  $-2,100$  to  $-1,600$  ms with respect to face onset, to avoid the contribution of the EEG activity elicited by the cue onset ( $-1,500$  ms) and to prevent expectation effects. When transformed to percentage, these normalized power values are equivalent to the event-related desynchronization/event-related synchronization (ERD/ERS) measure (Pfurtscheller and Lopes da Silva, 1999).

We first evaluated the effect of group and semantic congruence on the amplitude of event-related potentials (ERPs). The partial-least square (PLS) approach was used to identify the strongest experimental effects in time and space (at sensor level) domains simultaneously (Lobaugh et al., 2001; Düzel et al., 2003), thus avoiding the problem of multiple comparisons. To this aim, we used the PLScmd toolbox for Matlab, (<http://www.rotman-baycrest.on.ca/pls/source/>). PLS significance was assessed by 10,000 permutations and 2,000 bootstrap estimations of standard errors. To determine in which frequency range event-related (or phase-locked) oscillatory activity contributed to the effects observed on ERPs, the same procedure was applied on the averaged waveform of each frequency band. Given that only event-related delta activity contributed to ERP differences (data not shown), the remaining effects observed from 4 to 25 Hz are induced in nature.

By using the PLS, we also evaluated the effect of group and semantic congruence on power values of nonphase locked oscillatory activity.

Again, statistical significance was assessed by 10,000 permutations and 2,000 bootstrap estimations of standard errors. Next, we applied serial  $t$ -tests (for related samples in the case of semantic congruence and for independent samples in the case of group differences) on the power data averaged over sensors in which PLS yielded significant differences within a specific frequency band. A minimum number of 125 (500 ms) consecutive samples had to show significant differences in order to proceed with the estimation of source generators.

### Modelling the Sources of EEG Oscillations

Sources of EEG oscillations were modelled in those frequency ranges where the effect of group and/or semantic congruence was/were strongest. Briefly, we first extracted the constant field distributions of nonphase locked oscillatory activity from single trials (Guderian and Düzel, 2005) and later applied a multiple-constrained beamformer approach (Van Veen et al., 1997) with correlated source suppression (Diwakar et al., 2011) to compute the spatial filters required for localizing the oscillatory cortical activity.

The cortical space was divided into a regular 5-mm voxel grid, and sensor outputs from unit dipoles in the three Cartesian directions were computed at each grid location. We used a realistic boundary-element model (Oostenveld et al., 2001) based on a standard template (Colin27 T1-weighted averaged MRI). This volume conduction model consists of 3 closed compartments with conductivities 0.33, 0.0042, and 0.33 S/m corresponding to skin, skull, and brain, respectively. The regularization parameter was set at 0.001% of the largest eigenvalue of the covariance matrices.

### Statistical Analysis of Cortical Source Imaging

The effect of age was first removed from single-trial estimates at the source level using the general linear model (Stolk et al., 2013). To determine the effect of semantic congruence and the interaction with the group, we applied a hierarchical statistical model to reduce the influence of intersubject variability in oscillatory responses resulting from across-subjects analyses (Holmes and Friston, 1998). In a first step, the two conditions of semantic congruence were compared for each participant by applying a voxel-wise  $t$ -test for independent samples on the original source activation maps obtained from all trials. In a second step, individual  $t$ -statistic maps were entered into a one-sample  $t$ -test at the group level to establish those cortical regions showing significant power differences between SCF and SIF. To evaluate whether the effect of semantic congruence was homogeneously distributed in the two groups (interaction effect), we applied a two-sample independent  $t$ -test on every voxel reaching statistical significance in the previous step.

Group differences were assessed in two different manners, either comparing HO with aMCI individuals, or considering the APOE  $\epsilon 4$  (HO vs. aMCI  $\epsilon 4^-$ ; HO vs. aMCI  $\epsilon 4^+$ ; aMCI  $\epsilon 4^-$  vs. aMCI  $\epsilon 4^+$ ). The power of EEG oscillations in HO and aMCI was compared with a two-sample independent  $t$ -test

computed on original source activation maps. However, for comparing HO with any of the other subgroups (aMCI  $\epsilon 4^-$  or aMCI  $\epsilon 4^+$ ) without biasing the signal-to-noise ratio resulting from differences in the number of subjects per group, we first performed 1,000 random draws of the data into two similar-sized groups (18 aMCI  $\epsilon 4^-$  and 16 aMCI  $\epsilon 4^+$ ), keeping the original assignment of the group fixed. Next, two-sample  $t$ -tests were applied on each draw, obtaining a distribution of 1,000  $t$ -values for each voxel. The statistical maps were obtained by computing the median  $t$ -value of each voxel distribution.

To obtain that part of the EEG source activity responsible for associative memory regardless of the congruence condition, we performed correlation analyses between the *associative d'* and mean source activation maps derived from SCF and SIF. Correlations between individual SCF versus SIF contrasts ( $t$ -statistic maps) and *semantic d'* were also computed to identify regional modulations of EEG oscillations that correlated with improved memory as a result of semantic congruence. For across- and within-group analyses, Spearman correlation coefficients ( $r$ ) were computed at the voxel level. To study group differences in the source-behaviour relationship, we performed between-group analyses using the Fisher method for independent samples applied to correlations. Here,  $r$  maps for each group were first transformed to  $z$ -score maps and then the corresponding Fisher test was applied to obtain  $z$ -statistic values.

The FWE rates were controlled by applying nonparametric permutation tests in combination with suprathreshold cluster analyses (Nichols and Holmes, 2002). Before cluster analysis, all  $t$ -statistic and mean activation maps were smoothed with an isotropic Gaussian kernel of 10 mm. The cluster was defined from the sum of the  $r$ -,  $t$ -, or  $z$ -values of contiguous voxels (cluster mass). After applying a primary threshold to voxels,  $P$ -values ( $\alpha = 0.05$ ) were assessed by means of 1,000 permutations using the Monte Carlo method implemented in the Fieldtrip toolbox.

Coordinates of peak voxels and local maxima statistic values within each significant cluster were transformed from the Montreal Neurological Institute (MNI) canonical brain (Colin 27) to the Talairach space (Talairach and Tournoux, 1988) by using a nonlinear transformation. Cluster voxels were labelled according to the Brodmann area (BA) atlas included in the WFU Pick Atlas toolbox (Maldjian et al., 2003), using the same brain template employed for EEG source analyses.

### Time Course Reconstruction of EEG Sources

After group-level analyses, peak voxels and local maxima were selected to reconstruct the time course of EEG sources in the different frequency bands. We applied the same hierarchical model described above for statistical analysis. Briefly, we first obtained the optimal dipole orientation [Eq. (8), Gross et al., 2001], then computed the power estimates using the voxel spatial filters and the mean covariate matrix of the time-of-interest described previously [Eqs. (4 and 5), Gross et al., 2001]. Next, the optimal spatial filter was obtained by multiplying every optimal orientation value by its corresponding voxel spatial filters. The output of this computation was then multiplied by

the filtered signal in the corresponding frequency bin of interest. Power decreases/increases relative to the baseline were computed in single-trial EEG source signals, as performed at the sensor level. Time series of normalized power values were averaged across the frequency bins of interest before computing statistical analyses in the time domain.

To correct the FWE rate for all time points jointly we used the maximum statistic approach (Nichols and Holmes, 2002). For every time window of 40 ms, after face-stimulus onset, we computed the  $r$ ,  $t$ , or  $z$  statistic for the original data. We repeated this for each randomization of the data (1,000), selecting the maximum (or minimum) statistic across all time windows. The 95th quantile of the distribution derived from the selected maximum (or minimum) statistics was used as a critical threshold to retain or reject the null hypothesis of either no differences between conditions/groups or no correlation between oscillatory activity and memory performance.

## RESULTS

### Behavioral Results

Performance in the biographical matching task was unaffected by either semantic congruence or the group. In the visuospatial memory task, the two-way mixed ANCOVA not only revealed the expected associative deficit in aMCI subjects ( $F_{1,57} = 8.2$ ;  $P < 0.006$ ), but also the reduced capacity of this population to benefit from semantic congruent cues at encoding ( $F_{1,57} = 10.9$ ;  $P < 0.002$ ). Post-hoc analysis confirmed that only HO adults performed significantly better for SCF than for SIF ( $P < 0.001$ ), although aMCI subjects also showed a trend towards statistical significance ( $P < 0.09$ ), suggesting a subtle congruency benefit. This benefit was even more evident for RT ( $P < 0.07$ ), but interaction was not significant.

The influence of APOE  $\epsilon 4$  was not assessed in HO because none of them showed the  $\epsilon 4$  allele ( $\epsilon 4^+$ ). In the aMCI group, only one subject was homozygote for APOE  $\epsilon 4$ , 16 were heterozygote ( $\epsilon 3/\epsilon 4 = 13$ ;  $\epsilon 2/\epsilon 4 = 3$ ) and the remaining participants were  $\epsilon 4$  negative ( $\epsilon 3/\epsilon 3 = 17$ ;  $\epsilon 2/\epsilon 3 = 2$ ). Including this factor, the ANCOVA yielded a significant interaction effect for accuracy ( $F_{1,31} = 5.6$ ;  $P < 0.03$ ), suggesting that only aMCI  $\epsilon 4^-$  were able to benefit from semantic congruence ( $P < 0.05$ ). It is worth noting that aMCI  $\epsilon 4^+$  also gave faster responses for SCF than for SIF ( $P < 0.05$ ), but the interaction was not significant.

Interestingly, the analysis of the interaction effect ( $F_{2,56} = 8.8$ ;  $P < 0.001$ ) derived from the ANCOVA including the three groups (HO, aMCI  $\epsilon 4^-$ , aMCI  $\epsilon 4^+$ ) revealed group differences for the accuracy index, but only in response to SCF. Indeed, HO exhibited the best performance, which was significantly different from both aMCI  $\epsilon 4^-$  ( $P < 0.05$ ) and aMCI  $\epsilon 4^+$  ( $P < 10^{-4}$ ), followed by aMCI  $\epsilon 4^-$  that also performed better than aMCI  $\epsilon 4^+$  ( $P < 0.04$ ). Regarding RT, the interaction effect was almost significant ( $P = 0.051$ ), being aMCI  $\epsilon 4^+$  faster for SCF than for SIF ( $P < 0.005$ ). Figure 1 shows

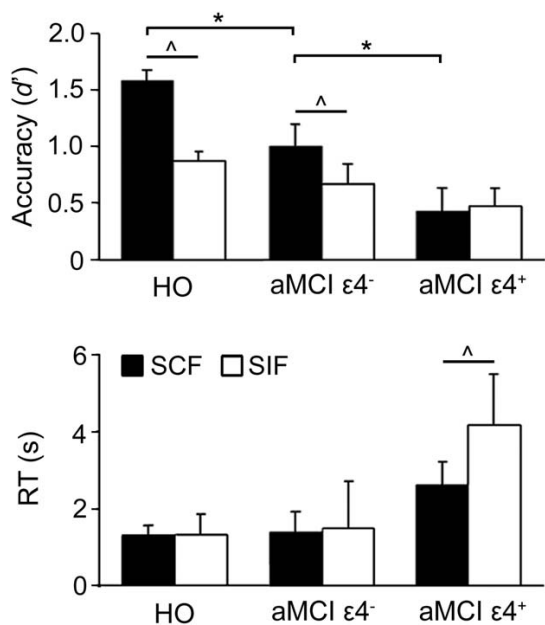


FIGURE 1. Mean accuracy and RT in the visuospatial memory task. Error bars are standard errors of the mean. Asterisks indicate significant group differences for SCF, whereas circumflex accents refer to significant differences between conditions of semantic congruence for each group.

the mean accuracy index *d'* and RT during recognition of face-location associations encoded under semantically congruent and incongruent conditions for each group.

Given that the shortening of responses to SCF shown by aMCI ε4<sup>+</sup> individuals was accompanied by a decrease in accuracy, we performed a regression analysis with age as covariate to test whether there was a significant speed-accuracy tradeoff. The regression analysis did not yield significant correlations between *d'* and RT for SCF in any group (neither for the whole sample, nor for the aMCI group, nor for the ε4<sup>+</sup> subsample). On the basis of these results, we reject the hypothesis that congruency-related accuracy deficits in aMCI, particularly ε4<sup>+</sup>, may be associated with faster responses.

The ANOVA applied to performance in the conceptual priming task yielded a significant priming effect for both the accuracy index ( $F_{1,58} = 143.9$ ;  $P < 10^{-16}$ ) and the RT ( $F_{1,58} = 28.3$ ;  $P < 10^{-5}$ ). There were neither significant group differences nor interaction effects, suggesting that both HO and aMCI subjects were able to automatically access semantic information. Similar results were obtained when aMCI were split on the basis of the APOE ε4 genotype.

### Changes in Cortical Oscillations at the Sensor Level

Figure 2A (left panel) shows the TFR of *t*-values averaged across those sensors showing a significant effect of congruence by the PLS. Processing of SCF compared to SIF was

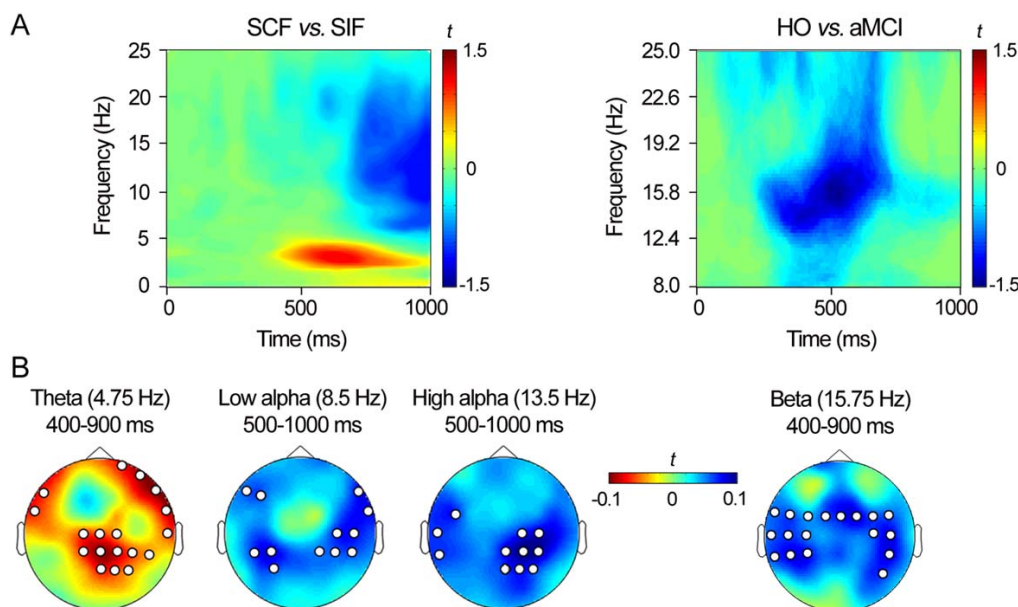
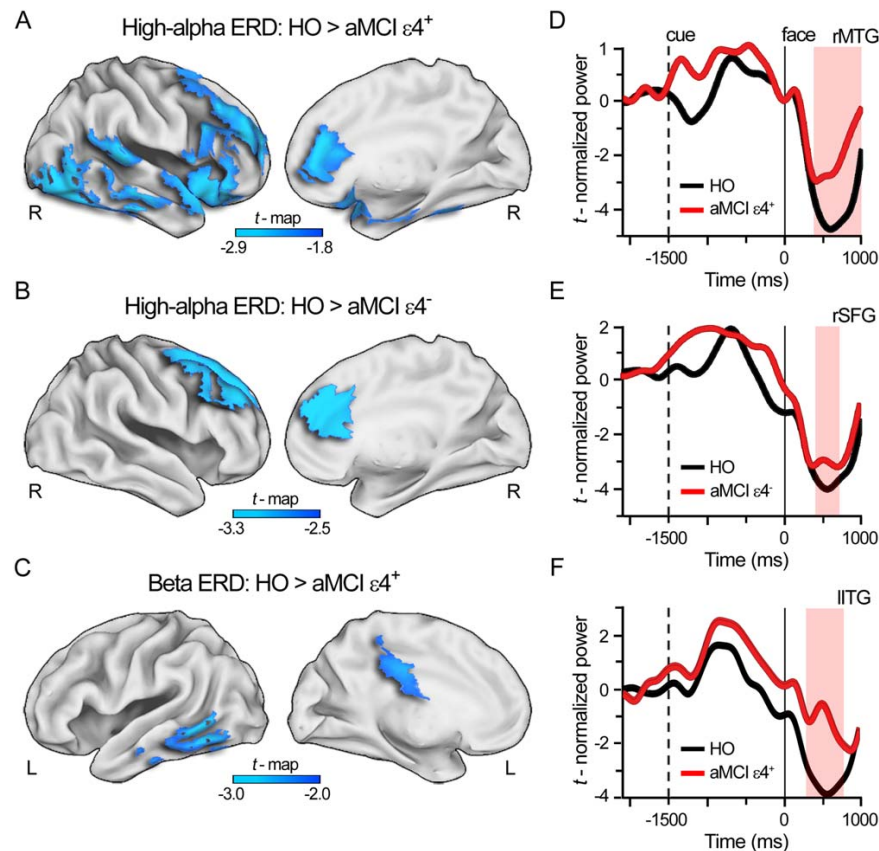


FIGURE 2. Main effects of semantic congruence and group on normalized power at the sensor level. (A) Time frequency representation of *t*-values averaged across sensors showing a significant effect of congruence (left panel) and group (right panel) by the PLS. (B) Topographical statistical maps obtained from the PLS analysis for the time-frequency bins that were later used for esti-

mation of cortical source generators. White circles indicate sensors where differences in the normalized power between SCF and SIF or between HO and aMCI were significant. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]





**FIGURE 3.** Main effect of the group on high-alpha and beta ERD at the source level. (A–C) Statistical nonparametric maps showing higher ERD in the high-alpha or beta band for HO than for aMCI either  $\epsilon 4^+$  or  $\epsilon 4^-$ . The color gradient is mapped to statistical values ( $t$  statistic). Peak voxels of significant clusters are listed in Table 2. (D–F) Time reconstruction of cortical sources for peak voxels representative of differences either between HO and aMCI  $\epsilon 4^+$  in the right middle temporal gyrus for high-alpha

oscillations (rMTG; BA 19; [ $x y z$ ] = [60 –63 18]) and in the left inferior temporal gyrus for beta oscillations (lITG; BA 37; [–65 –58 –7]) or between HO and aMCI  $\epsilon 4^-$  in the right superior prefrontal gyrus (rSFG; BA 8; [20 27 43]). Pink-shadow vertical bars indicate the time intervals for group differences after correcting for multiple comparisons across time. R = right. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]

accompanied by a significant relative increase of normalized theta power (i.e., ERS) mainly over frontotemporal and centro-parietal sensors in the 500–900 ms interval. On the contrary, alpha and beta oscillations showed power decreases (i.e., ERD) over temporoparietal sensors in the 600–1000-ms time interval. Neither group differences, nor interaction effect, nor correlations with *associative d'* or *semantic d'* indices reached statistical significance for any frequency band at the sensor level when the PLS was applied between 2 and 25 Hz, and group and congruence were included as between- and within-subjects factors, respectively. However, the TFR after subtracting signals of the two groups unveiled differences in the beta frequency band around 500 ms from face presentation. Therefore, we repeated the PLS between 8 and 25 Hz and included the group as the only factor. This analysis confirmed group differences between 250 and 750 ms. HO subjects showed higher beta ERD not

only when compared to aMCI individuals, but also in comparison with both aMCI  $\epsilon 4^-$  and  $\epsilon 4^+$ . Nevertheless, these comparisons only achieved statistical significance by limiting the PLS to a smaller spectrotemporal window (13.5–25 Hz and 0–1,000 ms for the comparison to  $\epsilon 4^-$ ; 13.5–17 Hz and 250–750 ms for the comparison to  $\epsilon 4^+$ ). Figure 2A (right panel) shows the TRF of  $t$ -values averaged across those sensors showing significant differences by the PLS between HO and aMCI subjects. The localization procedure was then applied within a 500 ms window selected around the maximal  $t$ -values derived from congruency and group contrasts. The time and frequency bin corresponding to the maximal  $t$ -values used for the phase alignment preceding estimation of cortical source generators for the congruence effect were 672 ms–4.75 Hz (time window for localization = 400–900 ms), 1,000 ms–8.5 Hz, 996 ms–13.5 Hz (time window for localization in both

TABLE 2.

Effect of APOE ε4 on High-Alpha and Beta ERD at the Source Level during Successful Encoding

Contrast ( $P_{\text{cluster-corrected}}$ ) Cortical region	BA	x	y	z	t	Time interval (ms)
High-alpha ERD						
HO > aMCI ε4 <sup>-</sup> ( $P < 0.002$ )						
R Superior frontal gyrus	8	20	27	43	-3.23	468-780
R Middle frontal gyrus	6	25	27	48	-3.18	0-1,000
R Anterior cingulate	32	10	32	28	-3.32	364-1,000
HO > aMCI ε4 <sup>+</sup> ( $P < 0.002$ )						
R Middle frontal gyrus	9/6/8	40	47	28	-3.42	260-1,000
R Inferior frontal gyrus	47/46	55	22	-12	-2.92	468-1,000
R Medial frontal gyrus	25	-10	22	-22	-2.81	260-1,000
R Anterior cingulate	32	25	37	13	-2.87	364-1,000
R Insula	13	50	12	-7	-3.05	468-1,000
R Superior temporal gyrus	22	55	7	-2	-2.94	468-1,000
R Middle temporal gyrus	19	60	-63	18	-2.66	468-1,000
R Inferior temporal gyrus	20	70	-33	-22	-3.08	468-780
R Middle occipital gyrus	18	50	-78	-7	-2.98	208-1,000
Beta ERD						
HO > aMCI ε4 <sup>+</sup> ( $P < 0.03$ )						
R Insula	13	45	-38	28	-0.83	52-988
R Supramarginal gyrus	40	50	-43	33	-0.80	104-936
R Posterior cingulate gyrus	31	20	-33	28	-0.80	468-988
R Paracentral lobule	5/3	25	-33	53	-0.77	468-728
L Posterior cingulate gyrus	31	-10	-28	38	-0.84	468-780
L Precuneus	7/5	-10	-43	53	-0.76	468-728
( $P < 0.05$ )						
L Middle temporal gyrus	21	-60	-63	3	-1.06	52-988
L Inferior temporal gyrus	37	-65	-58	-7	-1.01	208-988
	20	-65	-23	-22	-0.85	520-988

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the indicated peak voxel and the remaining to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. L = left; R = right; HO = healthy older; aMCI = amnesic mild cognitive impairment.

cases = 500-1,000 ms), and for the group effect 516 ms-15.75 Hz (although differences were significant in the 250-750-ms interval, time window for localization was 400-900 ms because significant beta power decreases with respect to baseline were evident in the latter window but not in the former one). The scalp distribution of *t*-values corresponding to these time-frequency bins is illustrated in Figure 2B. These EEG signals will be hereinafter referred as theta (4.75 Hz), low alpha (8.5 Hz), high alpha (13.5 Hz), and beta (15.75 Hz).

### Changes in Cortical Oscillations at the Source Level

#### Effect of group and APOE ε4 genotype

HO showed decreased high-alpha power (increased high-alpha ERD) than aMCI over a vast cortical network in the right hemisphere ( $P_{\text{cluster-corrected}} < 0.002$ ) spanning frontal areas during the major part of the encoding interval, temporal regions from around 400 ms after face onset to the end of the interval, and parieto-occipital areas around the 500-700-ms interval. As illustrated in Figures 3A,B, these differences were mainly due to the

contribution of aMCI ε4<sup>+</sup>. In fact, when HO were compared to aMCI ε4<sup>-</sup>, differences were restricted to lateral and medial parts of the right frontal lobe (see Table 2 and Fig. 3B). The time course of representative cortical sources of this activity is illustrated in Figures 3D-E.

HO further showed increased beta ERD in comparison to aMCI ε4<sup>+</sup> in lateral regions of the left temporal lobe in most of the analyzed time interval as well as in medial regions of the bilateral parietal lobe within the 500-1,000-ms time interval (see Figs. 3C,F, and Table 2). Interestingly, aMCI ε4<sup>-</sup> also showed higher beta ERD than aMCI ε4<sup>+</sup> in these same regions ( $P_{\text{cluster-corrected}} < 10^{-10}$ ). In this particular case, differences were mostly significant in the 750-1,000-ms interval, and extended to lateral and medial regions of the right hemisphere (data not shown).

#### Effect of semantic congruence

Consistently with results obtained at the sensor level, encoding of SCF relative to SIF was paralleled by theta power increases (enhanced ERS) and alpha power decreases (enhanced ERD) in both HO and aMCI subjects. But the most

TABLE 3.

Cortical Regions Showing the Highest Effect of Semantic Congruence on High-Alpha ERD During Successful Encoding in Each Group Separately

Contrast (group) $P_{\text{cluster-corrected}}$	Cortical region	BA	$x$	$y$	$z$	$t$	Time interval (ms)
SCF > SIF (HO) $P < 0.05$							
	R Fusiform gyrus	20	50	-33	-22	-4.31	676-1,000
	R Middle temporal gyrus	37	65	-53	-12	-2.89	728-884
SCF > SIF (aMCI $\epsilon 4^-$ ) $P < 0.03$							
	R Superior parietal lobe	7	25	-43	63	-4.69	520-936
	R Supramarginal gyrus	40	55	-43	33	-3.30	624-832
	R Lingual gyrus	18	25	-78	-7	-3.47	624-832
	R Posterior cingulate gyrus	31	20	-23	43	-3.46	728-884
	R Middle occipital gyrus	18	30	-98	13	-3.09	624-1,000
	R Parahippocampal gyrus	35	30	-23	-22	-2.50	676-884
SCF > SIF (aMCI $\epsilon 4^+$ ) $P < 0.04$							
	L Inferior frontal gyrus	47	-45	32	-7	-7.83	0-832
	L Middle frontal gyrus	46	-50	42	8	-5.80	0-1,000
	L Medial frontal gyrus	10	-15	57	-2	-4.43	0-1,000
	L Superior frontal gyrus	10	15	72	3	-3.51	468-884

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the indicated peak voxel and the remaining to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. L = left; R = right; HO = healthy older; aMCI = amnesic mild cognitive impairment.

interesting results were obtained when the effect of semantic congruence on EEG oscillatory activity was evaluated in the high-alpha band for each group separately. As shown in Table 3 and illustrated in Figure 4A, HO showed decreased high-alpha power in the right fusiform gyrus and right middle tem-

poral gyrus, whereas the pattern of power decreases in aMCI  $\epsilon 4^-$  extended to lateral areas of the right parietal lobe and medial areas of the occipital and temporal lobe. Finally, in the case of aMCI  $\epsilon 4^+$ , encoding of SCF induced higher high-alpha ERD in ventromedial and ventrolateral areas of the

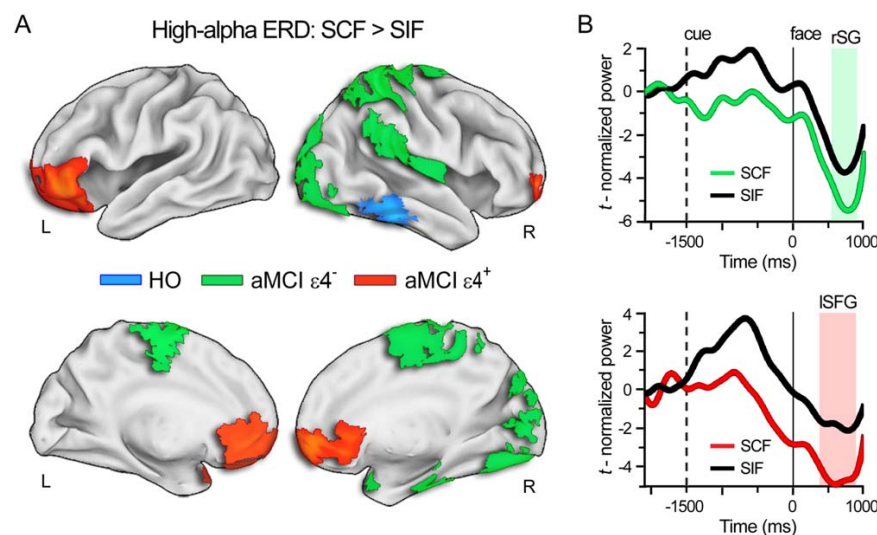
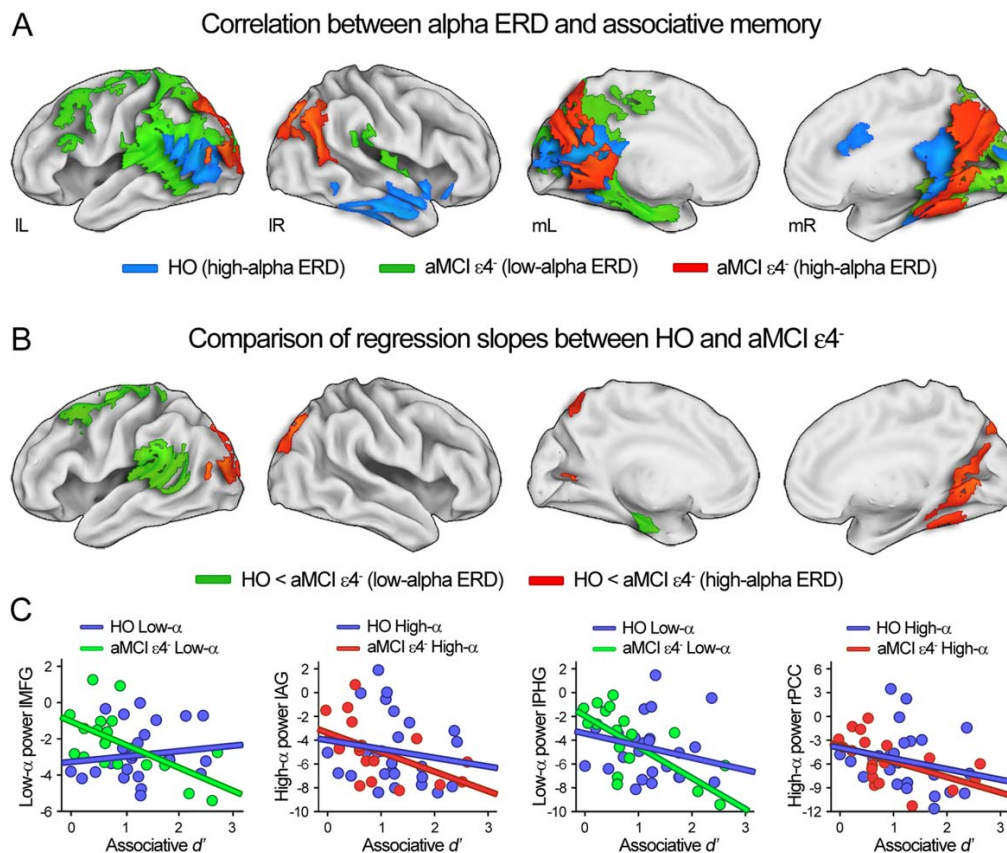


FIGURE 4. Main effect of semantic congruence on high-alpha ERD at the source level. (A) Statistical nonparametric maps showing higher ERD in the high-alpha band for SCF than for SIF in blue for HO, in green for aMCI  $\epsilon 4^-$ , and in red for aMCI  $\epsilon 4^+$ . Peak voxels of significant clusters are listed in Table 3. (B) Time reconstruction of cortical high-alpha sources for peak voxels representative of differences between SCF and SIF in aMCI  $\epsilon 4^-$  (green vs. black; right supramarginal gyrus [rSG]; BA 40; [x y z] = [55

-43 33]) and  $\epsilon 4^+$  (red vs. black; left superior frontal gyrus [ISFG]; BA 10; [15 72 3]). Green- and pink-shadow vertical bars indicate the time intervals where the two semantic conditions were significantly different after correcting for multiple comparisons across time ( $P < 0.05$ ). L = left; R = right. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]



**FIGURE 5.** Relationship between alpha oscillations and associative memory. (A) Statistical nonparametric maps showing the significant Spearman correlations resulting from regression analyses between alpha ERD and *associative d'* across subjects. Blue and red spots correspond to significant correlations with high-alpha ERD in HO and in aMCI ε4<sup>-</sup>, respectively. Green spots show significant correlations with low-alpha ERD in aMCI ε4<sup>-</sup>. (B) Statistical nonparametric maps showing significant differences between the regression slopes of HO and aMCI ε4<sup>-</sup> either for low-alpha ERD (green) or high-alpha ERD (red). Peak voxels of

significant clusters are listed in Table 4. (C) Scatterplots showing differences in the regression slopes for representative peak voxels corresponding to the left middle frontal gyrus (IMFG; BA 6; [*x y z*] = [-35 12 63]), left angular gyrus (IAG; [-45 -73 28]), left parahippocampal gyrus (IPHG; BA 34; [-40 -43 3]), and right posterior cingulate (rPCC; BA 30; [5 -68 13]). IL = lateral left; IR = lateral right; mL = medial left; mR = medial right. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]

prefrontal cortex bilaterally. Significant differences between SCF and SIF were observed in practically the whole interval of interest (0–1,000 ms after face onset) for the aMCI ε4<sup>+</sup> group, whereas they were mostly restricted to the 500–1,000-ms interval in the other two groups. The time course of representative cortical sources for aMCI individuals on the basis of the presence/absence of the ε4 allele is illustrated in Figure 4B.

### Encoding-related EEG oscillations related to memory performance in the visuospatial task

Although no group showed a significant relationship between associative memory and the power of brain oscillations at the sensor level, analysis at the source level and on the reconstructed time-domain signals indicated that regional decreases of low-alpha power were accompanied by improve-

ments of associative memory (*associative d'*) in HO and aMCI ε4<sup>-</sup>, but not in aMCI ε4<sup>+</sup> (Fig. 5A). At first sight, two results capture our attention. On the one hand, aMCI ε4<sup>-</sup> recruit larger regions than HO during successful encoding of face-location associations that later contributed to memory recognition. And on the other, and in spite of the high overlapping in the medial areas of the parieto-occipital lobe, there are cortical areas that are specifically recruited by either HO, like anterior cingulate and lateral regions of the right temporal cortex, or by aMCI ε4<sup>-</sup>, particularly frontolateral and mesiotemporal regions in the left hemisphere as well as lateral areas in the parieto-occipital cortex bilaterally.

When we performed voxel-wise comparisons of the regression slopes between HO and aMCI ε4<sup>-</sup>, correlations were always stronger in the latter group. The localization and time interval of these differences for low- and high-alpha oscillations

TABLE 4.

Cortical Regions Showing Significant Differences after Comparing the Regression Slopes of HO and aMCI (Resulting from Correlations between Changes in Alpha ERD and Associative  $d'$ )

Frequency of ERD Contrast ( $P_{\text{cluster-corrected}}$ ) Brain region	BA	x	y	z	t	Time interval (ms)
<b>Low-alpha ERD</b>						
HO < aMCI $\epsilon 4^-$ ( $P < 0.03$ )						
L Superior frontal gyrus	9	0	62	23	1.90	884–1,000
L Middle frontal gyrus	6	-35	12	63	2.59	728–1,000
L Precentral gyrus	4	-25	-18	63	2.50	52–1,000
L Poscentral gyrus	3	-25	-23	68	2.47	156–1,000
L Supramarginal gyrus	40	-65	-43	33	2.98	572–1,000
L Parahippocampal gyrus	19/34	-40	-43	3	2.37	676–1,000
<b>High-alpha ERD</b>						
HO < aMCI $\epsilon 4^-$ ( $P < 0.001$ )						
L Angular gyrus	39	-45	-73	28	3.32	676–1,000
L Middle occipital gyrus	19	-30	-88	18	4.37	520–1,000
R Posterior cingulate	30	5	-68	13	3.10	364–1,000
R/L Precuneus	7	30	-78	53	2.59	520–832
L Cuneus	30/19	0	-73	13	3.18	364–1,000
R Cuneus	19	30	-88	38	2.66	728–1,000
aMCI $\epsilon 4^-$ > aMCI $\epsilon 4^+$ ( $P < 0.03$ )						
L Middle occipital gyrus	19	-35	-88	18	-3.73	364–884

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the indicated peak voxel and the remaining to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. ERD = event-related desynchronization; L = left; R = right; HO = healthy older; aMCI = amnesic mild cognitive impairment.

are specified in Table 4. Figure 5B shows the cortical areas where regression slopes differed between these two groups. Differences in the low-alpha band were observed in the parahippocampal gyrus, temporoparietal junction, and frontal eye fields of the left hemisphere, whereas in the high-alpha band these differences were mostly evident in the right fusiform gyrus, right medial aspects of the occipital cortex along with lateral and medial aspects of the dorsal posterior parietal cortex in the two hemispheres. Scatterplots for representative voxels are illustrated in Figure 5C.

No significant correlations between *semantic d'* and power changes of theta, alpha or beta oscillations were found. However, and in agreement with behavioral results showing that group differences were only evident for SCE, we found that high-alpha power decreases in different cortical regions in each group were negatively correlated with the accuracy index  $d'$  for SCF (see Fig. 6). As indicated in Table 5, memory for SCF in HO was related to changes in high-alpha power in lateral and medial regions of the right hemisphere spanning the fusiform gyrus and adjacent parahippocampal gyrus between 468 and 884 ms, the superior temporal gyrus between 468 and 936 ms, and the adjacent anterior insula between 520 and 624 ms. In the case of aMCI  $\epsilon 4^-$ , only the right inferior parietal lobe showed a significant relationship with performance between 728 and 988 ms. Interestingly, and in line with the lack of congruency benefit in aMCI  $\epsilon 4^+$ , the ventrolateral and ventromedial prefrontal cortex showed a significant relationship

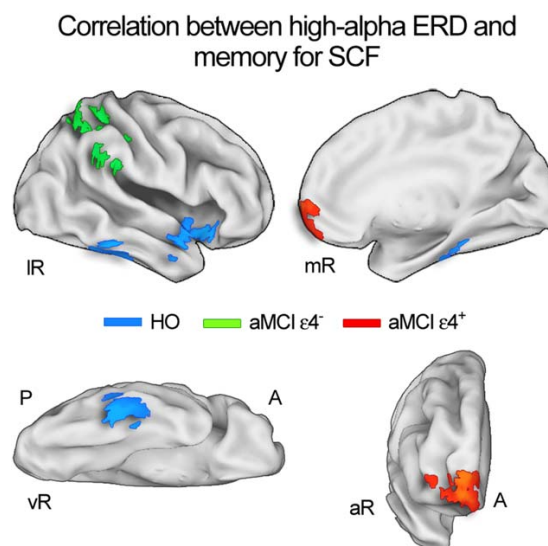


FIGURE 6. Statistical non-parametric maps showing the significant Spearman correlations resulting from regression analyses between high-alpha ERD and  $d'$  for SCF across subjects. Results in blue correspond to significant correlations in HO, significant correlations in aMCI  $\epsilon 4^-$  appear in green, whereas those in red correspond to aMCI  $\epsilon 4^+$ . Peak voxels of significant clusters are listed in Table 5. A = anterior; aR = anterior right; IR = lateral right; mR = medial right; P = posterior; vR = ventral right. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]

TABLE 5.

*Cortical Regions Showing Significant Correlations between High-Alpha ERD and  $d'$  for either Semantically Congruent or Incongruent Faces in Each Group Separately*

Group (Congruence) $P_{\text{cluster-corrected}}$	Brain region	BA	$x$	$y$	$z$	$r$	Time interval (ms)
HO (SCF) $P < 0.04$							
	R Fusiform gyrus	20	45	-38	-17	-0.55	468-884
	R Superior temporal gyrus	38/22	50	2	-22	-0.45	468-936
	R Insula	13	50	-3	-2	-0.44	520-624
aMCI $\epsilon 4^-$ (SCF) $P < 0.0001$							
	R IPL	40	55	-48	38	-0.54	728-1,000
aMCI $\epsilon 4^+$ (SCF) $P < 0.001$							
	R Superior frontal gyrus	10	20	67	3	-0.77	0-884
	R Medial frontal gyrus	10	15	72	-7	-0.67	260-1,000
aMCI $\epsilon 4^+$ (SIF) $P < 0.018$							
	R Superior frontal gyrus	10	35	57	13	-0.75	520-832

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the indicated peak voxel and the remaining to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. L = left; R = right; SCF = semantically congruent faces; SIF = semantically incongruent faces; HO = healthy older; aMCI = amnesic mild cognitive impairment.

with memory performance for both SCF in almost the whole interval of interest and for SIF between 520 and 832 ms.

## DISCUSSION

The present study has confirmed that the aMCI status, together with the presence of the APOE  $\epsilon 4$  genotype, reduces the beneficial role of pre-existing knowledge in the formation of new episodic memories (Atienza et al., 2011a). This, together with the fact that the three groups (HO, aMCI  $\epsilon 4^-$ , and aMCI  $\epsilon 4^+$ ) performed similarly on conceptual priming and associative recognition for SIF, reinforces the idea that the relationship between semantic and episodic memory systems might be more precise than an independent evaluation of both systems in distinguishing the cognitive phenotype of aMCI  $\epsilon 4$  carriers and noncarriers.

These differences in cognitive function supposedly result from regionally specific structural and functional changes associated to AD pathology that are further potentiated by the APOE  $\epsilon 4$  status (Foster et al., 2013). In accordance with the functional deficit, only aMCI  $\epsilon 4^+$  showed decreased neural activation, as revealed by smaller ERD in two frequency bands tightly related to semantic encoding like alpha and beta (Hanslmayer et al., 2009). Particularly, aMCI  $\epsilon 4^+$  showed smaller beta ERD than HO in lateral regions of the left hemisphere, and smaller high-alpha ERD in medial, ventrolateral, and anterior regions of the right temporal lobe (Fig. 3), the latter being the same cortical regions that contributed to the congruency benefit in HO (Fig. 6). These findings not only could account for the lack of congruency benefit in these individuals, but also are consistent with results from a lesion study showing

a clear congruency benefit in amnesic patients with damage in the medial temporal lobe but not in those with lesions that extended to the lateral temporal lobe (Kan et al., 2009).

This functional deficit may be due to the structural damage caused by deposits of A $\beta$  and neurofibrillary tangles in the temporal lobe years before clinical diagnosis of AD. This hypothesis is supported by recent evidence showing increased gray matter atrophy in aMCI  $\epsilon 4^+$  compared to noncarriers in the same areas of the right temporal lobe where our aMCI  $\epsilon 4^+$  showed reduced activation in the high-alpha frequency band (Goñi et al., 2013). If we add to these results that the lateral temporal regions have also shown lower gray matter volume (Alexander et al., 2012) and hypometabolism (Reiman et al., 2005) in a sample of cognitively normal  $\epsilon 4^+$  several decades before age- or AD-related cognitive impairment becomes evident, it is clear that APOE  $\epsilon 4$  may alter the time course of changes in processing efficiency and capacity in functional networks.

In line with the degeneracy model proposed by Price and Friston (2002), early onset of anatomo-functional alterations in the temporal lobe related to the APOE genotype might promote reduction of processing efficiency and capacity in  $\epsilon 4$  carriers, which in turn, could have the effect of impeding engagement of compensatory mechanisms to prevent performance from decreasing. For instance, there is evidence that compensation is tightly related to severity of the associative deficit in both HO (Crespo-García et al., 2012) and MCI individuals (Clément and Belleville, 2010) when they are split into good and bad performers. Here, we have shown similar results when aMCI participants were separated into  $\epsilon 4$  carriers and noncarriers. Although both groups showed a relationship between memory for SCF and changes in high-alpha power in different cortical regions (Fig. 6; meaning enhanced activation, see e.g., Hanslmayer et al., 2011), only  $\epsilon 4^-$  showed congruency benefit

and associative memory comparable to HO. Consequently, this reduced functional efficiency can only be interpreted in terms of compensation in aMCI  $\epsilon 4^-$ , whereas it would be a reflection of redundant and nonselective neural recruitment in  $\epsilon 4^+$ .

Two lines of evidence support this interpretation. First, only aMCI  $\epsilon 4^-$  showed a selective relationship between enhanced activation in the right inferior parietal lobe (decreased high-alpha power) and enhanced memory for SCF. The role of this region in the bottom-up control of attention (e.g., Shomstein, 2012) suggests that it may be recruited to compensate for a possible deficit of attention in the frontal lobe, as derived from a reduced activation of these cortical regions during encoding when compared to HO (Fig. 3B). On the contrary, aMCI  $\epsilon 4^+$  showed that memory for face-location associations preceded by congruent cues at encoding were related to enhanced activation in the lateral and ventromedial prefrontal cortex (Fig. 6), but this neural enhancement was not accompanied by a significant congruency benefit at behavioral level, likely because of a deficit in semantic processing during encoding as derived from group differences (HO vs. aMCI  $\epsilon 4^+$ ) in activation of temporal regions (Figs. 3A,C). Second, only aMCI  $\epsilon 4^-$  showed stronger correlation between associative memory and enhanced activation (decreased low- and high-alpha power) compared to HO in a distributed fronto-temporo-parietal network including cuneus, precuneus, fusiform gyrus, parahippocampal gyrus and temporo-parietal junction (Fig. 5B). Together, these results suggest that although aMCI  $\epsilon 4^-$  showed no reduced activation in areas of the lateral temporal lobe, crucial for successful encoding of associative memory in HO adults, the underlying degeneracy could make this regional recruitment insufficient to fulfill that goal. Alternatively, aMCI  $\epsilon 4^-$  managed to keep cognitive performance at a high level by engaging attentional, perceptual and semantic mechanisms in additional neocortical regions. This is a further demonstration that processing efficiency is reduced in aMCI  $\epsilon 4^-$ , but processing capacity is still preserved.

This raises the question of why aMCI  $\epsilon 4^+$  do not recruit compensatory mechanisms. The presence of the APOE  $\epsilon 4$  genotype has an important impact on A $\beta$  metabolism and it probably increases the AD risk by initiating and accelerating A $\beta$  accumulation, aggregation and deposition in the brain (Kim et al., 2009; Liu et al., 2013). Evidence suggests that fibrillar A $\beta$  burden measured with the Pittsburgh Compound B (PiB) PET is positively related to APOE  $\epsilon 4$  gene dose in HO subjects (Reiman et al., 2009). Although this study also reported higher A $\beta$  burden in  $\epsilon 4$  homozygotes than in  $\epsilon 4^-$  in a highly distributed network, we would like to remark that  $\epsilon 4$  heterozygotes (the most prominent isoform in our aMCI sample) also showed increased A $\beta$  burden in right lateral parietal regions, the same cortical regions recruited by our aMCI  $\epsilon 4^-$  as compensatory mechanisms. In particular, the right inferior parietal lobe and precuneus, two of the regions that contributed to congruency benefit in aMCI  $\epsilon 4^-$ , are also among the cortical regions that best discriminate between stable MCI and converters to AD (Habert et al., 2011). This result is not surprising if we consider that the precuneus together with the

adjacent angular gyrus are important modules of the semantic memory system involved in complex information integration and knowledge retrieval (Binder et al., 2009). However, the association between APOE  $\epsilon 4$  and A $\beta$  deposition is still under debate. Indeed, recent evidence indicates that these two factors may exert independent effects on brain function (Sheline et al., 2010; Jagust and Landau, 2012; Oh and Jagust, 2013). For instance, in one of these studies, A $\beta$  deposition in cognitively normal older adults disrupted task-dependent functional connectivity of brain regions engaged in successful episodic encoding, but this effect was independent of the APOE  $\epsilon 4$  allele (Oh and Jagust, 2013).

Future research with larger cohorts is necessary to disentangle which aspects of the present APOE-related pattern of results are linked to A $\beta$  deposition. These studies should further address associative and semantic memory separately as well as episodic-semantic interdependence, in order to determine whether the extension of damage of this relationship is above and beyond what is expected from damage of these separate systems. The present results not only go in that direction but also point out that differences in the APOE-related cognitive phenotype in aMCI are accompanied by changes in functional organization as revealed by task-related changes in brain oscillations. In particular, we have seen that aMCI  $\epsilon 4^-$ , unlike carriers, are able to maintain memory performance because they are still able to compensate for reduced processing efficiency by recruiting distributed cortical areas through alpha and beta oscillatory cortical networks. The inability of aMCI  $\epsilon 4^+$  to recruit similar compensatory mechanisms is not surprising if we consider their incapacity to engage normal age-related compensatory processes even at middle age (Filippini et al., 2011). Nevertheless, previous studies have shown evidence of compensation in cognitively normal  $\epsilon 4^+$  even when performance was equal to or better than that of noncarriers (Wishart et al., 2006; Evans et al., 2014). Therefore, the reduced capacity shown by aMCI  $\epsilon 4^+$  to improve associative memory when encoding is supported by pre-existing semantic knowledge is consistent with the property of this genetic factor to accelerate progression from MCI to AD in a dose-dependent manner (Xu et al., 2013). Future research is needed to determine whether this inability to recruit compensatory mechanisms during encoding of semantically congruent episodic events is able to predict progression from MCI to AD.

## REFERENCES

- Alexander GE, Bergfield KL, Chen K, Reiman EM, Hanson KD, Lin L, Bandy D, Caselli RJ, Moeller JR. 2012. Gray matter network associated with risk for Alzheimer's disease in young to middle-aged adults. *Neurobiol Aging* 33:2723–2732.
- Atienza M, Atalaia-Silva KC, Gonzalez-Escamilla G, Gil-Neciga E, Suarez-Gonzalez A, Cantero JL. 2011a. Associative memory deficits in mild cognitive impairment: The role of hippocampal formation. *Neuroimage* 57:1331–1342.

- Atienza M, Crespo-García M, Cantero JL. 2011b. Semantic congruence enhances memory of episodic associations: Role of theta oscillations. *J Cogn Neurosci* 23:75–90.
- Bero AW, Yan P, Roh JH, Cirrito JR, Stewart FR, Raichle ME, Jin-Moo L, Holtzman DM. 2011. Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- $\beta$  deposition. *Nat Neurosci* 14:750–756.
- Binder JR, Desai RH, Graves WW, Conant LL. 2009. Where is the semantic system? A critical review and meta-analysis of 120 functional neuroimaging studies. *Cerebral Cortex* 19:2767–2796.
- Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernández G, Sol JM, Blesa R. 1998. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities NORMACODEM Group. *Int Psychogeriatr* 10:261–270.
- Bondi MW, Houston WS, Eyster LT, Brown GG. 2005. fMRI evidence of compensatory mechanisms in older adults at genetic risk for Alzheimer disease. *Neurology* 64:501–508.
- Bookheimer SY, Strojwas MH, Cohen MS, Saunders AM, Pericak-Vance MA, Mazziotta JC, Small GW. 2000. Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 343:450–456.
- Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, Sheline YI, Klunk WE, Mathis CA, Morris JC, Mintun MA. 2005. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: Evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci* 25:7709–7717.
- Cirrito JR, Kang JE, Lee J, Stewart FR, Verges DK, Silverio LM, Bu G, Mennerick S, Holtzman DM. 2008. Endocytosis is required for synaptic activity-dependent release of amyloid- $\beta$  in vivo. *Neuron* 58:42–51.
- Clément F, Belleville S. 2010. Compensation and disease severity on the memory-related activations in mild cognitive impairment. *Biol Psychiatr* 68:894–902.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921–923.
- Crespo-García M, Cantero JL, Pomyalov A, Boccaletti S, Atienza M. 2010. Functional neural networks underlying semantic encoding of associative memories. *Neuroimage* 50:1258–1270.
- Crespo-García 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.
- Dennis NA, Browndyke JN, Stokes J, Need A, Burke JR, Welsh-Bohmer KA, Cabeza R. 2010. Temporal lobe functional activity and connectivity in young adult *APOE*  $\epsilon 4$  carriers. *Alzheimer's Dementia* 6:303–311.
- Divakar M, Huang MX, Srinivasan R, Harrington DL, Robb A, Angeles A, Muzzatti L, Pakdaman R, Song T, Theilmann RJ, Lee RR. 2011. Dual-Core Beamformer for obtaining highly correlated neuronal networks in MEG. *Neuroimage* 54:253–263.
- Düzel E, Habib R, Schott B, Schoenfeld A, Lobaugh N, McIntosh AR, Scholz M, Heinze HJ. 2003. A multivariate, spatiotemporal analysis of electromagnetic time-frequency data of recognition memory. *Neuroimage* 18:185–197.
- Espinosa A, Alegret M, Valero S, Vinyes-Junqué G, Hernández I, Mauleón A, Rosende-Roca M, Ruiz A, López A, Tárraga L, 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. *J Alzheimer's Dis* 34:769–780.
- Evans S, Dowell NG, Tabet N, Tofts PS, King SL, Rusted JM. 2014. Cognitive and neural signatures of the *APOE* E4 allele in mid-aged adults. *Neurobiol Aging* 35:1615–1623.
- 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. *Am J Neuroradiol* 8:421–426.
- Filippini N, MacIntosh BJ, Hough MG, Goodwin GM, Frisoni GB, Smith S, Matthews P, Beckmann C, Mackay CE. 2009. Distinct patterns of brain activity in young carriers of the *APOE*- $\epsilon 4$  allele. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:7209–7214.
- Filippini N, Ebmeier KP, MacIntosh BJ, Trachtenberg AJ, Frisoni GB, Wilcock GK, Beckmann CF, Smith SM, Matthews PM, Mackay CE. 2011. Differential effects of the *APOE* genotype on brain function across the lifespan. *Neuroimage* 54:602–610.
- Foster JK, Albrecht MA, Savage G, Lautenschlager NT, Ellis KA, Maruff P, Szoeke C, Taddei K, Martins R, Ames D et al. 2013. Lack of reliable evidence for a distinctive  $\epsilon 4$ -related cognitive phenotype that is independent from clinical diagnostic status: Findings from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle Study. *Brain* 136:2201–2216.
- Goñi JI, Cervantes S, Arrondo G, Lamet I, Pastor P, Pastor MA. 2013. Selective brain gray matter atrophy associated with *APOE*  $\epsilon 4$  and *MAPT* H1 in subjects with mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis* 33:1009–1019.
- Gross J, Kujala J, Hämäläinen M, Timmermann L, Schnitzler A, Salmelin R. 2001. Dynamic imaging of coherent sources: Studying neural interactions in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:694–699.
- Guderian S, Düzel E. 2005. Induced theta oscillations mediate large-scale synchrony with mediotemporal areas during recollection in humans. *Hippocampus* 15:901–912.
- Habert MO, Horn JF, Sarazin M, Lotterie JA, Puel M, Onen F, Zanca M, Portet F, Touchon J, Verny M, et al. 2011. Brain perfusion SPECT with an automated quantitative tool can identify prodromal Alzheimer's disease among patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 32:15–23.
- Hanslmayr S, Spitzer B, Bäuml KH. 2009. Brain oscillations dissociate between semantic and nonsemantic encoding of episodic memories. *Cereb Cortex* 19:1631–1640.
- Hanslmayr S, Volberg G, Wimber M, Raabe M, Greenlee MW, Bäuml KHT. 2011. The relationship between brain oscillations and BOLD signal during memory formation: a combined EEG-fMRI study. *J Neurosci* 31:15674–15680.
- Holmes AP, Friston KJ. 1998. Generalisability, random effects and population inference. *Neuroimage* 7:S754.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. 1982. A new clinical scale for the staging of dementia. *Brit J Psychiatr* 140:566–572.
- Jagust WJ, Landau SM. 2012. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Apolipoprotein E, not fibrillar beta-amyloid, reduces cerebral glucose metabolism in normal aging. *J Neurosci* 32:18227–18233.
- Kan IP, Alexander MP, Verfaellie M. 2009. Contribution of prior semantic knowledge to new episodic learning in amnesia. *J Cognitive Neurosci* 21:938–944.
- Kim J, Basak JM, Holtzman DM. 2009. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 63:287–303.
- Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. 2013. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: Risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol* 9:106–118.
- Lobaugh NJ, West R, McIntosh AR. 2001. Spatiotemporal analysis of experimental differences in event-related potential data with partial least squares. *Psychophysiology* 38:517–530.
- Lobo A, Escobar V, Ezquerro J, Seva Díaz A. 1980. "El Mini-Examen Cognoscitivo"(Un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectuales en pacientes psiquiátricos). *Rev Psiquiat Pscol Med* 14:39–57.
- Maldjian JA, Laurienti PJ, Kraft RA, Burdette JH. 2003. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *Neuroimage* 19:1233–1239.
- Mayes A, Montaldi D, Migo E. 2007. Associative memory and the medial temporal lobes. *Trends Cogn Sci* 11:126–135.



APOE  $\epsilon$ 4-RELATED OSCILLATIONS DURING SUCCESSFUL ENCODING 1007

- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215.
- Nichols TE, Holmes AP. 2002. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples. *Hum Brain Mapp* 15:1–25.
- Oh H, Jagust WJ. 2013. Frontotemporal network connectivity during memory encoding is increased with aging and disrupted by beta-amyloid. *J Neurosci* 33:18425–18437.
- Oostenveld R, Praamstra P, Stegeman DF, van Oosterom A. 2001. Overlap of attention and movement-related activity in lateralized event-related brain potentials. *Clin Neurophysiol* 112:477–484.
- Oostenveld R, Fries P, Maris E, Schoffelen JM. 2011. FieldTrip: Open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data. *Comput Intell Neurosci* 2011:156869.
- Pa J, Boxer A, Chao LL, Gazzaley A, Freeman K, Kramer J, Miller BL, Weinwe MW, Neuhaus J, Johnson JK. 2009. Clinical-neuroimaging characteristics of dysexecutive mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 65:414–423.
- Percival DB, Walden AT. 1993. Spectral analysis for physical applications. Cambridge: Cambridge University Press.
- Perri R, Carlesimo GA, Serra L, Caltagirone C. 2005. 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.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. 1999. Mild cognitive impairment: Clinical characterization and outcome. *Arch Neurology-Chicago* 56:303–308.
- Pfurtscheller G, Lopes da Silva FH. 1999. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol* 110:1842–1857.
- Price CJ, Friston KJ. 2002. Degeneracy and cognitive anatomy. *Trends Cogn Sci* 6:416–421.
- Protas HD, Chen K, Langbaum JB, Fleisher AS, Alexander GE, Lee W, Bandy D, de Leon MJ, Mosconi L, Buckley S, Truran-Sacrey D, Schuff N, Winer MW, Caselli RJ, Reiman EM. 2013. Posterior cingulate glucose metabolism, hippocampal glucose metabolism, and hippocampal volume in cognitively normal, late-middle-aged persons at 3 levels of genetic risk for Alzheimer disease. *JAMA Neurol* 70:320–325.
- Reiman EM, Caselli RJ, Yun LS, Chen K, Bandy D, Minoshima S, Thibodeau NS, Osborne D. 1996. Preclinical evidence of Alzheimer's disease in persons homozygous for the  $\epsilon$ 4 allele for apolipoprotein E. *N Engl J Med* 334:752–758.
- Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, Saunders AM, Hardy J. 2004. Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:284–289.
- Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, Saunders AM, Hardy J. 2005. Correlations between apolipoprotein E epsilon4 gene dose and brain-imaging measurements of regional hypometabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:8299–8302.
- Reiman EM, Chen K, Liu X, Bandy D, Yu M, Lee W, Ayutyanont N, Keppler J, Reeder SA, Langbaum JB, Alexander GE, Klunk WE, Mathis CA, Price JC, Aizenstein HJ, DeKosky ST, Caselli RJ. 2009. Fibrillar amyloid-beta burden in cognitively normal people at 3 levels of genetic risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:6820–6825.
- Schiff SJ. 2005. Dangerous phase. *Neuroinformatics* 3:315–318.
- Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA, Roses AD. 1993. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:9649–9653.
- Sheline YI, Morris JC, Snyder AZ, Price JL, Yan Z, D'Angelo G, Liu C, Dixit S, Benzinger T, Fagan A, et al. 2010. APOE4 allele disrupts resting state fMRI connectivity in the absence of amyloid plaques or decreased CSF A $\beta$ 42. *J Neurosci* 30:17035–17040.
- Shmstein S. 2012. Cognitive functions of the posterior parietal cortex: top-down and bottom-up attentional control. *Front Integ Neurosci* 6:38.
- Stolk A, Todorovic A, Schoffelen JM, Oostenveld R. 2013. Online and offline tools for head movement compensation in MEG. *Neuroimage* 68:39–48.
- Tabert MH, Manly JJ, Liu X, Pelton GH, Rosenblum S, Jacobs M, Zamora D, Goodkind M, Bell K, Stern Y, Devand DP. 2006. Neuropsychological prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *Arch Gen Psychiat* 63:916–924.
- Talairach J, Tournoux P. 1988. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. New York: Thieme Medical Publishers.
- Trachtenberg AJ, Filippini N, Mackay CE. 2012. The effects of APOE- $\epsilon$ 4 on the BOLD response. *Neurobiol Aging* 33:323–334.
- Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Craik FI, Moscovitch M, Maione A, Gao F. 2012. Associative recognition in mild cognitive impairment: Relationship to hippocampal volume and apolipoprotein E. *Neuropsychologia* 50:3721–3728.
- Van Veen BD, Van Drongelen W, Yuchtman M, Suzuki A. 1997. Localization of brain electrical activity via linearly constrained minimum variance spatial filtering. *IEEE Trans Biomed Eng* 44:867–880.
- Wechsler, D. 1997. Wechsler Memory Scale—Third Edition Manual. San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
- Wishart HA, Saykin AJ, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, Guerin SJ, Mamourian AC, Belloni DR, Rhodes CH, McAllister TW. 2006. Increased brain activation during working memory in cognitively intact adults with the APOE epsilon4 allele. *Am J Psychiat* 163:1603–1610.
- 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. *J Alzheimers Dis* 33:507–515.
- Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O. 1983. Development and validation of a geriatric depression scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res* 17:37–49.



**APOE  $\epsilon$ 4 in amnesic mild cognitive impairment constrains engagement of encoding-related compensatory networks**

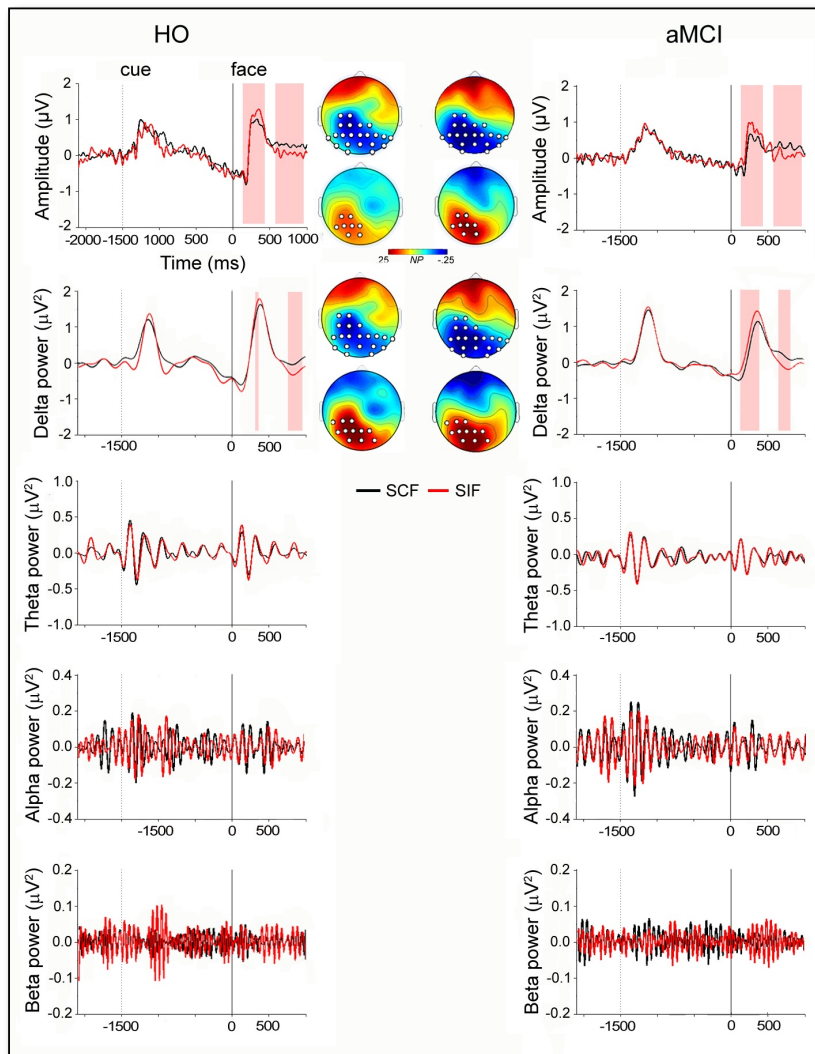
Laura Prieto del Val<sup>1</sup>, Jose L. Cantero<sup>1</sup>, Mercedes Atienza<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Functional Neuroscience, Spanish Network of Excellence for Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Pablo de Olavide University, Seville, Spain

**Supplementary material**

***SM1. Effect of congruence on phase-locked oscillatory activity at the sensor level***

Previous evidence from our lab using the same paradigm with young and older adults has shown that delta oscillations significantly contribute to the effect of semantic context on ERPs (Crespo-Garcia et al. 2010, 2012). Here, we have confirmed that phase-locked delta activity was responsible for ERP differences. More specifically, we found a significant effect of semantic congruence on the amplitude of the ERPs mainly over bilateral centro-parieto-occipital regions (C3, C1, CP3, CP1, P3, P1, Pz, P2, PO3, POz, PO4, PO8) in the delta frequency band. The effect of semantic congruence was comparable in both HO and aMCI participants. This was observed within the 300-368-ms interval (SIF>SCF) and within the 744-972-ms interval (SCF>SIF) in the control group ( $P<0.003$ ), and within 120-404-ms interval (SIF>SCF) and within 640-828-ms interval (SCF>SIF) in the aMCI group ( $P<0.05$ ). The PLS did not reveal either group differences or interaction. Figure SM1 shows grand-average ERPs and phase-locked delta oscillations for each condition of semantic congruence in HO and aMCI subjects.



**Figure SM1.** Effect of semantic congruence on ERP amplitude (top panel) and on the normalized spectral power of phase-locked oscillatory EEG activity for HO and aMCI subjects. Pink-shadow vertical squares indicate the time intervals where the amplitude of SCF (black line) was significantly higher compared to SIF (red line). The spatial distribution of the effect and sensors where the Partial Least Square (PLS) revealed significant differences are shown in the power distribution maps. SCF = semantically congruent faces; SIF = semantically incongruent faces.

***SM2. Modelling the sources of EEG oscillations***

Before localizing the sources of the oscillatory activity of interest, we extracted the constant field distributions of non-phase locked oscillatory activity within the different frequency bins of interest from single trials (Guderian and Düzel 2005). For this, we first calculated phase differences between sensor pairs at each time point of each single trial for the frequency bin showing the maximum statistic after averaging the sensors where PLS yielded significant differences. In particular, this procedure calculates the phase lag index of all the sensors with respect to the sensor showing the maximum power on each subject. Next, we applied the inverse wavelet transformation that uses Morlet wavelets to bring oscillatory amplitude information back to the time domain. Consequently, the field distribution includes both absolute amplitude and phase information (for more details on the phase alignment procedure, see Guderian and Düzel 2005).

To estimate the associated source EEG activity of the selected interval we used a beamforming approach with multiple constraints adapted to each individual data. A beamformer is a spatial filtering method designed to pass brain electrical activity from a specific location by attenuating contributions from other locations (e.g., Van Veen et al. 1997). To avoid beamformer typical difficulty in separating source-EEG activities highly correlated in time, the leadfield matrix ( $L$ ) containing the sensor potentials produced by a unit-magnitude source located at the studied location was extended to include equivalent information regarding the sources to be suppressed. To obtain the interfering locations without a priori knowledge, the dual-core beamformer approach was applied (Diwakar et al. 2011). This procedure allows us to identify the main pairs of correlated sources that co-exist in each individual dataset. We performed 1000 searches for each dataset and selected all source pairs found in more than 1.5% of the

searches, separated by a vector distance higher than 5 cm. Afterwards, a multiple-constrained beamformer with correlated source suppression was applied to compute the ultimate spatial filters required for localizing the oscillatory brain activity. As a result, spatial filters were obtained from the time-of-interest and baseline mean covariate matrices, respectively, to which each semantic condition contributed 50%. These spatial filters were then applied to corresponding single-trial covariate matrices, generating pseudo-z maps for each trial. Pseudo-z maps were computed as time-of-interest/baseline power map ratios, similar to the neural activity index used by Van Veen et al. (1997). This normalization step is required to reduce the undesired contribution of noise power, which increases with depth and distance from sensors (Vrba and Robinson 2001).

**SM3. Group differences in the power of non-phase beta oscillations at the source level**

**Table SM1.** Anatomical location of group differences in the power of sources of beta ERD during successful encoding.

Contrast ( $P_{\text{cluster-corrected}}$ ) Cortical region	BA	$x$	$y$	$z$	$t$	Time interval (ms)
HO > aMCI ( $P < 0.02$ )						
R Sup. frontal gyrus	6	35	2	68	-3.66	0-1000
R Mid. frontal gyrus	8	45	32	43	-3.49	312-936
R Inf. frontal gyrus	47/46/45	55	22	-17	-2.83	156-1000
R Cingulate gyrus	32	10	32	23	-3.74	260-1000
R Sup. temporal gyrus	22/39	55	2	-7	-3.19	364-1000
R Mid. temporal gyrus	21/39	70	-38	-17	-3.28	468-1000
R Inf. temporal gyrus	20	65	-33	-22	-3.31	468-832
R Fusiform gyrus	20	40	-38	-22	-2.77	364-1000
R Inf. parietal lobe	40	60	-43	53	-2.24	572-676
R Mid. occipital gyrus	19	55	-73	-7	-2.78	468-780

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the reported peak voxel and the following refers to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. ERD = event-related desynchronization. L = left. R = right.

***SM4. Effect of congruence on the power of non-phase oscillations at the source level***

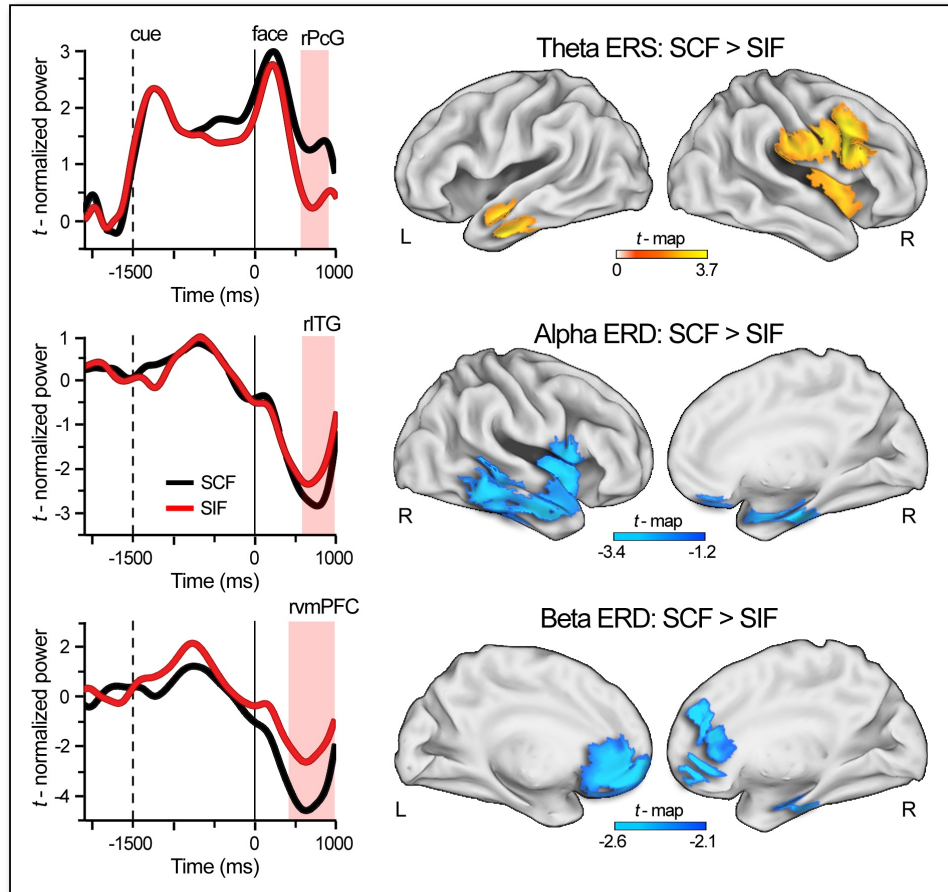
As indicated in Table SM1 and illustrated in Figure SM2, the source analysis revealed higher theta ERS for SCF than for SIF in regions of the left anterior temporal lobe, although only the inferior temporal gyrus showed significant differences after time reconstruction between 312 and 780 ms following face onset. These differences were also significant within a fronto-temporal network in the right hemisphere including the supramarginal gyrus (624-832 ms), and the anterior insula or the dorsolateral prefrontal cortex (520-728 ms and 468-1000 ms, respectively) ( $P_{cluster-corrected} < 0.01$ ). The effect of semantic congruence on theta power was also evident in regions of the medial prefrontal cortex, but did not survive after time-domain reconstruction. Higher alpha ERD for SCF than for SIF was observed in a right fronto-temporal network between 500-1000 ms following face onset ( $P_{cluster-corrected} < 0.02$ ). The same contrast yielded significant differences in beta within a similar time interval in bilateral frontal areas and temporal regions of the right hemisphere ( $P_{cluster-corrected} < 0.02$ ). Figure SM2 illustrates the effect of congruence on time domain for a representative voxel corresponding to each frequency band.

**Table SM2.** Anatomical location of semantic congruence effects on the power of source oscillations at different frequencies during successful encoding.

Frequency band	BA	<i>x</i>	<i>Y</i>	<i>z</i>	<i>t</i>	Time interval (ms)
Contrast ( $P_{\text{cluster-corrected}}$ )						
Cortical region						
<b>Theta ERS</b>						
SCF > SIF ( $P < 0.01$ )						
R Mid. frontal gyrus	9	60	17	33	3.91	468-1000
R Precentral gyrus	6/4	45	-3	28	3.94	520-884
R Insula	13	45	2	-2	2.79	520-728
L Inf. temporal gyrus	20	-45	-13	-22	3.53	312-780
R Supramarginal gyrus	40	50	-28	38	2.25	624-832
<b>Alpha ERD</b>						
SCF > SIF ( $P < 0.02$ )						
R Inf. frontal gyrus	44/46/47	55	2	13	-3.68	572-884
R Medial frontal gyrus	11	10	32	-22	-2.71	676-780
R Insula	13	50	-3	8	-3.62	572-884
R Sup. temporal gyrus	38	60	12	-17	-2.41	624-832
R Mid. temporal gyrus	21	60	-8	-22	-3.23	572-1000
R Inf. temporal gyrus	20	65	-48	-12	-3.29	572-1000
R Parahipp. gyrus	28	25	-18	-22	-3.31	676-780
<b>Beta ERD</b>						
SCF > SIF ( $P < 0.02$ )						
L Sup. frontal gyrus	9	-5	72	23	-3	676-1000
R Sup. frontal gyrus	8	15	47	38	-2.91	468-1000
L Mid. frontal gyrus	6	-20	22	63	-2.94	468-1000
L Inf. frontal gyrus	47	-40	22	-22	-2.75	728-1000
R Medial frontal gyrus	8	10	42	33	-2.86	468-1000
L Anterior cingulate	32	-5	52	-2	-3.3	676-1000
R Inf. temporal gyrus	37	55	-43	-22	-2.84	728-936
R Fusiform gyrus	20	45	-33	-22	-3.0	728-936
R Lingual gyrus	18	5	-103	-12	-2.58	572-936
R Parahipp. gyrus	36	40	-28	-22	-2.99	728-936

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the reported peak voxel and the following refers to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. ERS = event-related synchronization. ERD = event-related desynchronization. L = left. R = right.





**Figure SM2.** Effect of semantic congruence on cortical EEG sources of different frequency bands. Right panel: time domain reconstruction of t-normalized power for one of the voxels reached the maximal significance at source level. Left panel: Regional distribution of significant differences between SCF and SIF at different frequency bands after correcting for multiple comparisons. Voxels showing maxima statistics in each cluster for each contrast are shown in Table SM2. Note that the result of the congruence contrast for theta power is positive because power enhancement with respect to baseline (event-related synchronization, ERS) was higher for SCF than for SIF, whereas for alpha and beta frequencies, higher SIF power decreases with respect to baseline (event-related desynchronization, ERD) were more evident for SCF than for SIF. Both theta power increases and alpha/beta power decreases are interpreted as increased neural activation.

**SM5. Relationship between changes in alpha/beta power during successful encoding and performance in the associative memory task.**

**Table SM3.** Anatomical location of correlation between alpha/beta power and *associative d'* in both HO and aMCI  $\epsilon 4^{-}$ .

Frequency band	Group ( $P_{\text{cluster-corrected}}$ )	BA	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>t</i>	Time interval (ms)	
Cortical region								
Alpha ERD								
aMCI $\epsilon 4^{-}$ ( $P < 0.003$ )								
		L Postcentral gyrus	3	-25	-23	63	-0.52	104-1000
		L Precuneus	7	-10	-63	43	-0.51	52-1000
		L Post. cingulate	29/31/23	-5	-48	18	-0.46	676-1000
		L Parahipp. gyrus	28	-20	-18	-22	-0.42	520-1000
		L Mid. frontal gyrus	6	-25	7	43	-0.42	520-1000
		R Lingual gyrus	19	10	-63	3	-0.40	728-832
		L Cuneus	18	0	-83	33	-0.40	728-1000
Beta ERD								
HO ( $P < 0.02$ )								
		L Post. cingulate	29	-5	-43	8	-0.59	624-1000
		L Cuneus	18	-10	-78	23	-0.59	364-1000
		L Parahip. gyrus	18	-25	-58	8	-0.58	468-1000
		L Mid. temporal gyrus	37	-45	-63	13	-0.55	520-1000
		R Fusiform gyrus	20	50	-28	-22	-0.55	52-1000
		L Sup. temporal gyrus	20	-60	-58	23	-0.55	468-1000
aMCI $\epsilon 4^{-}$ ( $P < 0.04$ )								
		R Precuneus	19/7	50	-68	48	-0.47	312-1000
		R Cuneus	19	25	-83	43	-0.45	312-1000
		R Mid. temporal gyrus	39	40	-58	33	-0.44	260-1000
		R Angular gyrus	39	45	-58	38	-0.42	208-884
		R Post. cingulate	31	30	-63	23	-0.42	156-1000
		R Sup. temporal gyrus	22	40	-58	13	-0.42	416-1000

Notes: BA: Brodmann area. The first reported BA corresponds to the reported peak voxel and the following refers to the areas contributing the most. Voxel coordinates are in MNI space. ERS = event-related synchronization. ERD = event-related desynchronization. L = left. R = right.

## References

- 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.
- Diwakar M, Huang MX, Srinivasan R, Harrington DL, Robb A, Angeles A, Muzzatti L, Pakdaman R, Song T, Theilmann RJ, Lee RR. 2011. Dual-Core Beamformer for obtaining highly correlated neuronal networks in MEG. *NeuroImage* 54, 253-263.
- Guderian S, Düzel E. 2005. Induced theta oscillations mediate large-scale synchrony with mediotemporal areas during recollection in humans. *Hippocampus*. 15:901-912.
- Van Veen BD, Van Drongelen W, Yuchtman M, Suzuki A. 1997. Localization of brain electrical activity via linearly constrained minimum variance spatial filtering. *IEEE Trans Biomed Eng*. 44:867-880.
- Vrba J, Robinson SE. 2001. Signal Processing in Magnetoencephalography. *Methods*. 25:249-271.



# SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

## Atrophy of amygdala and abnormal memory-related alpha oscillations over posterior cingulate predict conversion to Alzheimer's disease

Received: 04 April 2016

Accepted: 28 July 2016

Published: 22 August 2016

Laura Prieto del Val, Jose L. Cantero &amp; Mercedes Atienza

Synaptic dysfunction, a key pathophysiological hallmark of Alzheimer's disease (AD), may account for abnormal memory-related EEG patterns in prodromal AD. Here, we investigate to what extent oscillatory EEG changes during memory encoding and/or retrieval enhance the accuracy of medial temporal lobe (MTL) atrophy in predicting conversion from amnesic mild cognitive impairment (aMCI) to AD. As expected, aMCI individuals that, within a 2-year follow-up period, developed dementia (N = 16) compared to healthy older (HO) (N = 26) and stable aMCI (N = 18) showed poorer associative memory, greater MTL atrophy, and lower capacity to recruit alpha oscillatory cortical networks. Interestingly, encoding-induced abnormal alpha desynchronized activity over the posterior cingulate cortex (PCC) at baseline showed significantly higher accuracy in predicting AD than the magnitude of amygdala atrophy. Nevertheless, the best accuracy was obtained when the two markers were fitted into the model (sensitivity = 78%, specificity = 82%). These results support the idea that synaptic integrity/function in the PCC is affected during prodromal AD and has the potential of improving early detection when combined with MRI biomarkers.

AD has now reached the loaded position of being recognized as a public worldwide health priority. In the absence of an effective therapy, reliable approaches to early diagnosis provide the best opportunity for future disease-modifying treatments to prevent and/or delay irreversible pathological changes<sup>1,2</sup>. Consistent with this view, new research criteria for preclinical AD have included biomarkers of neurodegeneration and amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) deposition. Converging evidence suggests that they are quite heterogeneous in predicting progression to AD, supporting the idea that different biomarkers become abnormal at different stages of the disease<sup>3</sup>.

Even though the two major proteinopathies underlying AD, A $\beta$  accumulation and neurofibrillary tangles, may be initiated independently<sup>3</sup>, they both cause neuronal and synapse loss in the very early stages of the disease<sup>4,5</sup>, leading to progressive dysfunction of neural networks controlling memory processes. Accordingly, functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies have provided correlates of heightened A $\beta$  burden in clinically normal adults associated with abnormal patterns of resting-state functional connectivity<sup>6–8</sup> and with functional deficits in brain areas subserving memory<sup>9–11</sup>. This evidence has recently been extended to resting-state cortical networks in MCI<sup>12,13</sup>.

Whereas fMRI has the capacity to measure hemodynamic responses associated with neuronal activity, EEG/MEG recordings provide a more direct measure of synaptic activity in cortical regions. It is, therefore, no wonder that EEG oscillations in a working-memory task<sup>14</sup> and a resting-state condition with closed eyes<sup>15</sup> were highly accurate in distinguishing at baseline stable MCI from those that developed AD one year later. However, to the best of our knowledge, no study to date has evaluated whether abnormal EEG oscillations associated with episodic/semantic memory impairment are also able to predict the risk of conversion from MCI to AD.

We hypothesize that power modulations of posterior EEG alpha sources associated with memory performance would be a good predictor of dementia in aMCI, especially if they are combined with MRI biomarkers of AD. Various lines of research support this hypothesis. Firstly, results derived from computational models have shown that cortical and thalamic oscillations in the alpha band are significantly affected by corticocortical

Laboratory of Functional Neuroscience, CIBERNED, Network Center for Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases, Pablo de Olavide University, Seville, Spain. Correspondence and requests for materials should be addressed to M.A. (email: matirui@upo.es)

synaptic loss<sup>16,17</sup>. Secondly, cognitive decline in aMCI has been associated with anomalies in the power (or phase synchrony) of posterior alpha sources during both conditions of resting state<sup>18,19</sup> and memory encoding<sup>20</sup>. And thirdly, there is evidence that abnormal alpha EEG oscillations are a functional reflection of cortical/subcortical atrophy across the disease<sup>21–25</sup>, and particularly of the hippocampal<sup>26</sup> and amygdalo-hippocampal complex atrophy<sup>27</sup>, so prediction is expected to improve if atrophy of MTL structures is incorporated into the model.

## Materials and Methods

**Subjects.** Sixty subjects were recruited from senior's citizen associations, normal community health screening, and hospital outpatient services. All participants were right-handed. Twenty-six were cognitively normal controls and 34 met core clinical criteria for aMCI due to Alzheimer's disease with an intermediate level of certainty<sup>28</sup>. Individuals with aMCI were divided into an "aMCI-converter" group (aMCI-c) that progressed to AD within a 2-year follow-up (N = 16), and an "aMCI-stable" group (aMCI-s) that remained stable during this time period (N = 18). Before participation, they gave informed consent to the experimental protocol approved by the Ethical Committee for Human Research at the Pablo de Olavide University according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. The methods were carried out in accordance with the approved guidelines. Inclusion and exclusion criteria for each one of these groups are described in Supplementary Material 1.

**Structural MRI acquisition and 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 were averaged after motion correction.

Cerebral MRI data were preprocessed using Freesurfer v5.3 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Removal of non-brain tissues was manually performed on a slice-by-slice basis in each participant to increase the accuracy of segmentation. Volumetric measures (mm<sup>3</sup>) were obtained for left and right sides of the hippocampus and amygdala, two MTL regions that have shown reduced volume in aMCI patients that progressed to AD at 1-year follow-up<sup>29</sup>.

**Experimental paradigm to evaluate associative memory.** The experimental paradigm used to assess associative memory is described in detail elsewhere<sup>30</sup>. Briefly, during the encoding task, participants were instructed to indicate whether or not the face (famous or non-famous), presented in one of four possible locations, matched the biographical cue presented immediately before in the same location. The biographical cue could be semantically congruent or incongruent with the face. Next, subjects performed a conceptual priming task, where all faces were presented in the same spatial location as in the encoding task, but they were not preceded by any biographical cue. Participants were asked to identify as accurately and quickly as possible whether a face corresponded to a famous or non-famous person. Finally, faces were presented again without any preceding cue in the memory task, either at the same location as in previous phases or at any of the three remaining locations. For each face, participants were required to identify as quickly and accurately as possible whether or not they matched the previous location.

**Behavioral measures.** Measures of recognition accuracy ( $d'$ ) were computed not only for semantically congruent faces (SCF) and semantically incongruent faces (SIF) separately, but also for the combination of these two conditions to obtain a measure of global episodic memory for famous faces (*associative d'*). We also computed an index that quantified the congruency benefit as revealed by differences in  $d'$  between semantically congruent and incongruent faces (*semantic d'*). In all cases,  $d'$  resulted from subtracting the z-score for the false alarm rate from the z-score for the hit rate. We further evaluated reaction times (RT) for correct responses to intact and rearranged face-spatial location associations (hits and correct rejections, respectively).

**EEG recordings and signal preprocessing.** EEG recordings were obtained from 59 scalp electrodes referenced to linked-mastoids, and positioned according to the extended International 10–20 system. Additional electrodes were placed for monitoring vertical-horizontal eye movements and the muscular tone. Skin-electrode impedances were maintained below 5 K $\Omega$  in EEG sensors. Ocular and muscle artifacts were partially removed from EEG recordings by applying Independent Component Analysis (ICA, Infomax algorithm) as implemented in the BrainVision Analyzer software v. 1.05 (Brain Products® GmbH). The remaining noisy epochs were manually selected and excluded from further analyses. Artifact-free epochs were then transformed into the common average reference. As participants are expected to recognize a higher number of congruent than incongruent trials, differences in EEG oscillations could be partially due to differences in the signal-to-noise ratio. To counteract this effect, we included in the analysis an identical number of trials in each congruence condition for each subject, provided that they were correctly recognized in at least two trials during the memory task. The mean number of trials  $\pm$  standard deviation was 55.7  $\pm$  12.8 for HO, 46.1  $\pm$  15.0 for aMCI-s, and 38.8  $\pm$  12.5 for aMCI-c.

**Time-frequency representation of EEG data.** The Fieldtrip toolbox (<http://fieldtrip.fcdonders.nl/>) was used to calculate baseline-corrected time-frequency representations (TFR) of spectral power across trials for each semantic condition and group. As growing evidence suggests that brain oscillations below 20 Hz are one of the core mechanisms of episodic memory<sup>31</sup>, we analyzed spectro-temporal information of frequencies ranging from 2 to 25 Hz by using a Morlet wavelet of 6 cycles. Next, we obtained task-related TFR of power decreases/increases relative to baseline defined from –2100 to –1600 ms and from –600 to –100 ms with respect to face onset during the encoding and memory task, respectively. When transformed to percentage, these normalized power values are equivalent to the event-related desynchronization/event-related synchronization (ERD/ERS) measure<sup>32</sup>.

**Statistical analysis.** *Behavior.* Statistical analysis of behavioral data was conducted using SPSS software package (Version 22.0; SPSS inc., USA). Group differences in gender were assessed with the Chi-square test while the remaining variables were tested using one-way analyses of variance (ANOVAs) with group (HO, aMCI-s, and aMCI-c) as the between-subjects factor. Results derived from the memory task were evaluated with a mixed analysis of covariance (ANCOVA) including group as the between-subjects factor, semantic cue (SCF and SIF) as the within-subjects factor, and age as nuisance. Post-hoc comparisons were performed with the Bonferroni correction.

*MRI volume of the hippocampus and amygdala.* Mixed ANCOVAs with group as the between-subjects factor, hemisphere as the within-subjects factor, and age and total intracranial volume (ICV) as nuisance variables were performed to identify group differences in the volume of the hippocampus and amygdala.

*EEG oscillations.* We first computed the partial-least square (PLS) at the sensor level to identify the strongest statistical effects in frequency, time, and space domains simultaneously, by using the PLScmd Matlab toolbox (<http://www.rotman-baycrest.on.ca/pls/>). This multivariate statistical technique attempts to explain the covariance between two blocks of explanatory (i.e., contrasts or memory indices like *associative* and *semantic d'*) and dependent variables (i.e., normalized EEG activity) by a small number of uncorrelated variables known as latent vectors. This approach was employed to evaluate: i) differences in EEG oscillations with respect to the baseline period, ii) differences in EEG oscillations between HO and aMCI, ii) differences in EEG oscillations between aMCI-s and aMCI-c, and iv) the relationship between behavioral data in the memory task and EEG oscillations. The whole statistical procedure is explained in detail in Supplementary Material 2.

Cortical EEG sources were only estimated in those spectro-temporal windows showing significant group differences (HO vs. aMCI or aMCI-s vs. aMCI-c) and/or significant increases/decreases of normalized power with respect to the baseline period. To this aim, we applied a beamforming approach with multiple constraints adapted to each individual data (see Supplementary Material 3). Further details related to the statistical approach employed at the source level are described in Supplementary Material 4.

*Regression analysis to predict conversion from aMCI to AD.* Regression analysis included only MRI volumes and/or EEG measures, either showing significant differences between aMCI-s and aMCI-c, or significant correlations with performance that distinguished the aMCI groups.

For the EEG measures, we first created spheres with a radius of 3 voxels, the largest radius that allowed us to avoid inclusion of non-significant values in the sphere while maintaining the voxel showing the local maxima as center of mass after either comparing the two groups or after correlation with performance for alpha and beta power during both the encoding and memory task. Next, results of voxels comprising each sphere were averaged. And finally, we averaged results from different spheres belonging to the same functional area (e.g., left posterior cingulate cortex).

For each frequency band (i.e., alpha and beta) and task (i.e., encoding and memory), separate forward step-wise logistic regression analyses, based on the likelihood ratio, were first conducted for clustered regional EEG measures derived from different contrasts. The same analysis was applied for the total volume of the hippocampus and amygdala, including the ICV as nuisance variable.

All models were cross-validated with a “leave-10-out” approach, by using 90% of the sample as the training set, and the remaining 10% as the validation set. To reduce variability, multiple rounds ( $N = 34$ ) of cross-validation were performed, and the validation results were averaged over the rounds. The main outcome measure was the averaged area under the curve (AUC) from the receiver-operating characteristic (ROC) curve with their corresponding confidence intervals. Additionally, we computed averaged overall accuracy, sensitivity, and specificity based on the cutoff value maximized with the Youden index (sensitivity + specificity - 1). The statistical significance of validation results was assessed with permutation testing ( $N = 10,000$ ).

Every MRI volume that survived the previous analysis was included in an independent logistic regression analysis with each one of the EEG variables whose predictive value was above the 95<sup>th</sup> percentile of the permutation distribution. In these particular cases, the ICV was also included as nuisance variable. All these models were also subjected to cross-validation and permutation testing. Finally, to determine which of these MRI, EEG, and MRI + EEG statistical models were better in predicting conversion to AD, we applied the Friedman test and the Wilcoxon signed-rank test with Bonferroni correction on the AUC and accuracy scores derived from the cross-validated models. For those models including more than one predictor variable, we determined the relative contribution of each predictor by applying the relative weight analysis, and calculated bootstrapped confidence intervals with the bias corrected accelerated method to assess whether the contribution of each predictor was significantly greater than zero.

## Results

**Demographic and cognitive profile.** Table 1 shows demographic and cognitive data for each group at baseline. The three groups were statistically homogeneous in age, gender, and education years. As expected, a main effect of group was found for all cognitive measures including the MMSE ( $F_{1,57} = 4.4, p < 0.02$ ), immediate ( $F_{1,57} = 21.7, p < 10^{-7}$ ), and delayed memory ( $F_{1,57} = 41.4, p < 10^{-11}$ ), the latter two scores derived from the Spanish version of the Logical Memory subtest extracted from the Wechsler Memory Scale-Third Edition<sup>33</sup>. These differences remained significant after adjusting by age and were mostly due to the better performance shown by HO, although aMCI-c also showed poorer delayed memory when compared with aMCI-s ( $p < 0.002$ ).

**Behavioral results in the associative memory task.** The ANCOVA revealed no significant main effect of congruence for accuracy, but it showed a main effect of group ( $F_{2,56} = 10.8; p < 0.0001$ ) and a significant

	HO (n = 26)	aMCI-s (n = 18)	aMCI-c (n = 16)	p <
Age, yr	66.7 ± 4.9	68.4 ± 7.1	69.7 ± 6.5	0.3
Gender (F/M)	13/13	13/5	9/7	0.4
Education, yr	7.3 ± 4.4	7.3 ± 5.1	7.7 ± 6.3	0.9
CDR	0	0.5	0.5	N/A
MMSE	28.4 ± 1.3	26.8 ± 2.1	26.4 ± 2.7	0.02
Immediate recall	14.3 ± 3.1	10.5 ± 2.3	8.9 ± 2.7	10 <sup>-7</sup>
Delayed recall	13.2 ± 2.9	8.3 ± 3.4	4.5 ± 2.9	10 <sup>-11</sup>
L Hippocampal volume	3220.8 ± 303.4	2837.0 ± 563.5	2556.6 ± 483.7	10 <sup>-4</sup>
R Hippocampal volume	3231.9 ± 355.5	2981.4 ± 481.0	2701.2 ± 333.5	0.001
L Amygdala volume	1437.9 ± 97.4	1280.3 ± 281.6	1169.9 ± 178.9	0.001
R Amygdala volume	1459.2 ± 164.6	1395.8 ± 229.6	1196.4 ± 155.7	0.001

**Table 1. Demographic data and cognitive profile.** Results are expressed as mean ± SD (standard deviation). F/M = female/male. CDR = Clinical Dementia Rating (0 no dementia, 0.5 questionable or very mild dementia). MMSE = Mini-Mental State Examination. N/A = no applicable;  $p$  =  $p$ -value indicating a main effect of group (for hippocampal and amygdala volume, age and intracranial volume were introduced as nuisance).

congruence × group interaction ( $F_{2,56} = 7.1$ ;  $p < 0.002$ ). As expected, aMCI-c exhibited poorer memory recognition than aMCI-s ( $p < 0.001$ ) and HO ( $p < 0.0001$ ), apart from being the only group that did not benefit from semantic congruence (Fig. 1A, top panel). Regarding RT data, no main effect of congruence, group, or congruence × group interaction was observed (Fig. 1A, bottom panel).

The absence of congruency benefit shown by the aMCI-c group was unlikely due to a deficiency in automatically accessing semantic information, as revealed by results derived from the conceptual priming task. HO were more accurate than aMCI-c ( $p < 0.01$ ) as suggested by the main effect of group ( $F_{2,56} = 5.4$ ;  $p < 0.05$ ). However, the main effect of congruence on both accuracy ( $F_{1,57} = 127.3$ ;  $p < 10^{-15}$ ) and RT ( $F_{1,57} = 26.4$ ;  $p < 10^{-5}$ ), and the lack of congruence × group interaction indicated that all three groups were more accurate and faster in response to SCF as compared with SIF.

The worst performance shown by the aMCI-c group during retrieval was also unlikely due to deficiencies in understanding task instructions. Two additional results support this idea. Firstly, no group differences were found regarding the percentage of omissions (times that people gave no response, HO = 0.1%, aMCI-s = 2.7%, aMCI-c = 1%). And secondly, although the aMCI-c group showed the lowest percentage of successful performance (proportion of hits plus correct rejections) during retrieval ( $F_{2,56} = 11.6$ ;  $p < 10^{-4}$ ), we found no significant group differences in the percentage of correct responses during the encoding ( $F_{2,56} = 2.4$ ;  $p = 0.1$ ) and conceptual priming task ( $F_{2,56} = 2.9$ ;  $p = 0.06$ ).

**Volume of hippocampus and amygdala: group differences and relationship with memory.** The ANCOVAs yielded significant group differences for the volume of the hippocampus ( $F_{2,54} = 11.4$ ;  $p < 0.0001$ ) and amygdala ( $F_{2,54} = 9.6$ ;  $p < 0.0003$ ). For both MTL structures, HO showed higher volume than any of the aMCI groups ( $0.0001 < p < 0.05$ ). However, only for the amygdala, aMCI-c showed greater atrophy than aMCI-s ( $p < 0.03$ ). The mean and standard deviation values of these two MTL regions in the left and right hemisphere for each group are shown in Table 1.

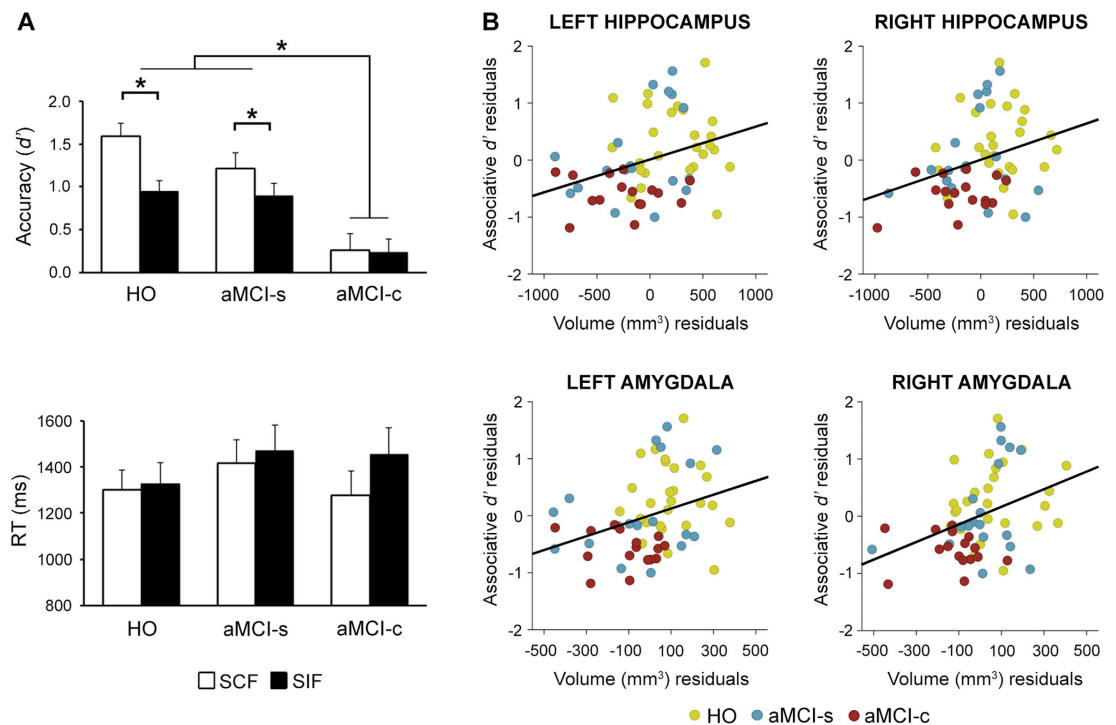
Regression analyses across all participants revealed a positive correlation between *associative d'* and the volume of hippocampus and amygdala in the left ( $0.44 < \beta < 0.51$ ) and right hemisphere ( $0.0002 < p < 0.00007$ ). These relationships did not achieve statistical significance when regression was performed within each group separately. Interestingly, significance was only lost when the aMCI-c group was removed from analyses but not when one of the two remaining groups was removed. This finding highlights the remarkable contribution of the aMCI-c group to this relationship, and indicates that the associative deficit becomes evident when the MTL reaches a certain level of atrophy. The regression analysis with *semantic d'* only survived Bonferroni correction for the left hippocampus ( $\beta = 0.36$ ;  $p = 0.006$ ). The scatter plots of the relationship between the residuals of associative memory and volume of each MTL region after regressing these variables on age and total ICV are depicted in Fig. 1B.

**EEG oscillations.** Results at the sensor level are described in detail in Supplementary Material 5. Briefly, HO showed a significant decrease of beta power (i.e., higher beta ERD) compared with aMCI during both the encoding (14–25 Hz; 0–1000 ms;  $p < 0.04$ ) and retrieval task (13.5–18 Hz; 700–1000 ms;  $p < 0.05$ ). During memory recognition, aMCI-s further showed higher alpha ERD than aMCI-c (see Figs S1 and S2, respectively, in Supplementary Material 5).

The EEG sources responsible for these differences were estimated for 8.5 Hz within 500 and 1000 ms during both the encoding and retrieval phases, for 15.75 Hz between 400 and 900 ms during encoding, and for 16.25 Hz between 500 and 1000 ms during retrieval.

**Changes in alpha/beta ERD associated with AD progression.** Although changes in alpha/beta oscillations distinguished aMCI-c from the remaining groups, and the aMCI-s group could further be distinguished from HO on the basis of the relationship between these oscillations and different aspects of memory (see Figs S2, S3 and Tables S1–S4 in Supplementary Material 6), here we will specifically focus on those aspects that allowed us to discriminate aMCI-s from aMCI-c, since they are the only ones that will be used in prediction analyses.





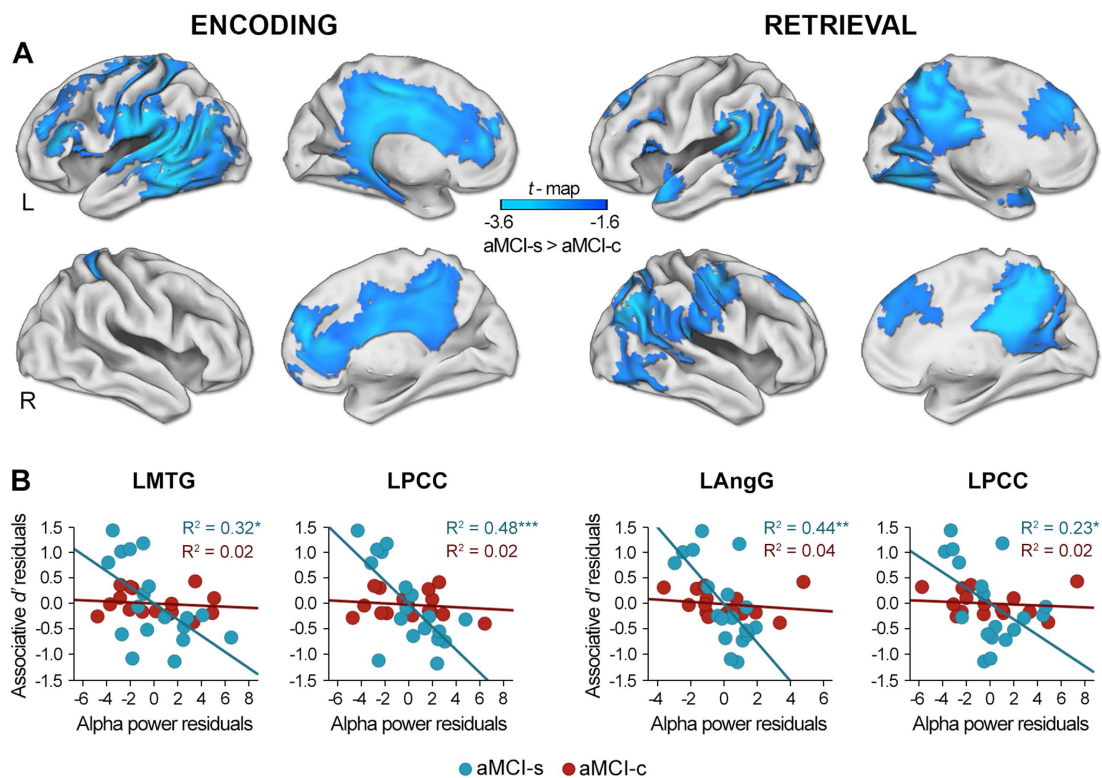
**Figure 1. Memory performance in the recognition task and associations with hippocampal and amygdala volumes.** (A) Mean accuracy and RT in the face-location memory task. Vertical lines on the bars refer to mean standard error. Asterisks indicate significant differences between the two conditions of congruency and between the aMCI-c group and the remaining two groups. (B) Scatter plots depicting correlation between residuals of *associative  $d'$*  and residuals of hippocampal or amygdala volume either on the left or right hemisphere after regressing these variables on age and total ICV. Each color represents one group. Given that regressions only reached significance when all participants were included in the analysis, only one fitted regression line was shown for each scatter plot.

During encoding, aMCI-c showed decreased alpha ERD with respect to aMCI-s ( $p_{cluster} < 0.02$ ) on a widespread cortical network comprising medial aspects of bilateral frontal and parietal lobes as well as regions in the left lateral and medial regions of the temporal lobe (Fig. 2A and Table 2). The aMCI-c group also showed lower alpha ERD ( $p_{cluster} < 0.03$ ) as compared with the aMCI-s group in most of the regions mentioned above during the memory task. These differences further extended to posterior lateral regions of the right hemisphere. Posterior cortical regions of the alpha network that distinguished aMCI-s from aMCI-c during both encoding and retrieval were correlated with *associative  $d'$*  only in the aMCI-s group (see Table S5 in Supplementary material 7). This finding is illustrated in the scatter plots depicted in Fig. 2B for encoding and retrieval, for both aMCI-s and aMCI-c individuals. Note that alpha power in the left posterior cingulate cortex during encoding showed the strongest contribution to regression in the aMCI-s group ( $R^2 = 0.48$ ;  $p = 0.001$ ).

While encoding associative memories, the aMCI-c group further showed decreased beta ERD ( $p_{cluster} < 0.006$ ) with respect to the aMCI-s group over the anterior cingulate bilaterally, left inferior parietal lobe, and some lateral regions of the right frontal lobe. However, these differences were restricted to the right parahippocampal gyrus during retrieval (Table 3). Unlike alpha oscillations across cortical networks, beta activity in these brain regions was unrelated to memory performance.

**Group differences in the relationship between beta ERD and memory.** Differences in beta ERD between SCF and SIF during encoding were more strongly correlated with the benefit of semantic congruence in aMCI-s than in aMCI-c over the left inferior parietal lobe ( $p_{cluster} < 0.02$ ), right superior parietal lobe ( $p_{cluster} < 0.003$ ), and right middle frontal, precentral, and postcentral gyrus ( $p_{cluster} < 0.02$ ) (Fig. 3A and Table 4). On the contrary, the aMCI-c group showed a stronger correlation compared to aMCI-s over areas of the medial prefrontal cortex. In this particular case, the higher the activation in these regions in response to SCF with respect to SIF, the lower the benefit of congruence shown by the aMCI-c group in the memory task.

During retrieval, aMCI-s showed a significantly stronger correlation between beta ERD and associative memory in a widespread cortical network when compared with aMCI-c ( $p_{cluster} < 0.04$ ) (Fig. 3A, and Table 4). These differences were firstly evident in the posterior cingulate gyrus bilaterally and in the dorsal motor regions of the left hemisphere (from 252 ms until the end of the analysis interval), and further extended to the right superior parietal lobe at about 400 ms and to the inferior parietal and frontal lobe from 500–600 ms onward. Figure 3B



**Figure 2. Topographic distribution of group differences in alpha ERD and correlations with memory performance.** (A) Statistical nonparametric maps showing higher alpha ERD in aMCI-s than in aMCI-c during encoding and retrieval. (B) Scatter plots illustrating the relationship between residuals of alpha ERD in a voxel showing local maxima in the group contrast and residuals of memory performance in the recognition task (*associative d'*), for both aMCI-s and aMCI-c after regressing these variables on age. L=left; R=right; LMTG=left middle temporal gyrus; LPCC=left posterior cingulate; LAngG=left angular gyrus; \*\* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

displays the scatter plots of group differences in the regression slopes between aMCI-s and aMCI-c for a representative voxel in the left anterior cingulate and right precuneus.

**Predicting conversion from aMCI to AD.** The forward stepwise logistic regression analysis derived from MRI (i.e., volume of hippocampus and amygdala) and based on the likelihood ratio test reached statistical significance only when the right amygdala was introduced into the model ( $\chi^2 = 9.2$ ,  $p < 0.01$ ). After conducting similar analyses for each frequency band (i.e., alpha and beta), only two models integrated by one alpha-generating source each were significant: one during encoding and the other during retrieval. Both alpha sources not only distinguished aMCI-s from aMCI-c, but they were also negatively correlated with the *associative d'* index in aMCI-s (Fig. 2B). In particular, the model derived from the encoding task included the alpha ERD over the left posterior cingulate (PCC, BA23 and BA31) ( $\chi^2 = 14.2$ ,  $p < 0.0002$ ), whereas the one resulting from the memory task included the alpha ERD over the left cuneus/precuneus (BA17 and BA7) ( $\chi^2 = 11.4$ ,  $p < 0.001$ ). The logistic regression analysis also revealed significant models when the volume of the right amygdala was combined with the alpha ERD during encoding ( $\chi^2 = 18.9$ ,  $p < 0.0003$ ) and retrieval ( $\chi^2 = 15.9$ ,  $p < 0.001$ ). Table 5 contains results associated with each one of these single models as well as with the composite models including MRI and EEG measures after applying cross-validation and permutation testing.

The Friedman test was significant for overall accuracy ( $\chi^2 = 100.8$ ,  $p < 10^{-20}$ ), AUC ( $\chi^2 = 123.4$ ,  $p < 10^{-25}$ ), sensitivity ( $\chi^2 = 75.3$ ,  $p < 10^{-14}$ ), and specificity ( $\chi^2 = 76.5$ ,  $p < 10^{-15}$ ), suggesting that some models were better predictors of AD progression than others. The post hoc Wilcoxon signed-rank tests yielded significant differences between almost all of the models after Bonferroni correction ( $p < 0.002$ ). Among the exceptions, the single model with the amygdala was found to improve neither the overall accuracy nor the specificity of the single model including the left PCC alpha ERD. Even so, the combination of right amygdala volume and alpha power over the left PCC showed the highest prediction capability. The relative weight was 67.7% for the left PCC and 24% for the amygdala, but only contribution of the former achieved statistical significance (CI = [0.04 1690.80]). In the model including the left cuneus/precuneus the relative weight analysis yielded similar results. The amygdala explained 26.7% of the variance and the left cuneus/precuneus the 61.1%, only the latter being significantly different from zero (CI = [0.02 114.47]).

Cortical region	BA	x	y	z	t	Time (ms)	T	p
<b>ENCODING TASK</b>								
aMCI-s > aMCI-c $p_{\text{cluster}} < 0.02$								
L Superior temporal gyrus	22	-55	-43	13	-3.62	208-980	-4.24/-2.31	0.0002-0.03
L Middle temporal gyrus	20	-65	-48	-17	-3.62	0-980	-4.36/-2.26	0.001-0.02
L Inferior parietal lobe	40	-65	-28	28	-3.53	208-980	-4.70/-2.44	0-0.02
L Postcentral gyrus	5	-30	-33	73	-3.40	0-980	-4.27/-2.29	0.0002-0.03
R Postcentral gyrus	7	15	-53	78	-2.25	624-884	-2.39/-2.31	0.02
L Anterior cingulate gyrus	32	0	42	23	-3.34	468-980	-4.93/-2.47	0-0.02
L Anterior cingulate gyrus	24	-10	-8	38	-3.26	0-980	-3.95/-2.29	0.0007-0.03
L Middle frontal gyrus	46	-50	32	18	-3.30	0-980	-4.51/-2.09	0.0001-0.05
L Posterior cingulate gyrus	31	-10	-28	48	-3.20	0-980	-3.62/-2.72	0.001-0.02
R Posterior cingulate gyrus	23	5	-13	28	-2.73	0-980	-3.59/-2.90	0.001-0.006
L Precentral gyrus	4	-25	-23	58	-2.98	312-980	-3.51/-2.19	0.002-0.04
R Medial frontal gyrus	9	10	47	28	-2.94	572-980	-4.91/-2.61	0-0.02
L Medial frontal gyrus	10	0	72	-2	-2.70	572-980	-3.28/-2.42	0.002-0.03
L Transverse temporal gyrus	42	-65	-13	8	-2.80	416-980	-3.21/-2.32	0.003-0.03
L Superior parietal lobe	7	-20	-58	73	-2.22	520-980	-2.64/-2.41	0.01-0.02
<b>RETRIEVAL TASK</b>								
aMCI-s > aMCI-c $p_{\text{cluster}} < 0.03$								
L Superior temporal gyrus	22	-65	-48	23	-3.65	252-980	-4.88/-2.33	0-0.03
L Temporal pole	38	-55	7	-12	-3.01	356-980	-2.69/-2.21	0.01-0.03
R Precuneus	7/19	5	-48	38	-3.59	252-980	-3.88/-2.53	0.0005-0.02
R Postcentral gyrus	3	50	-18	38	-3.11	252-876	-4.43/-2.37	0.0001-0.03
R Middle temporal gyrus	39	35	-58	28	-3.00	408-980	-3.26/-2.57	0.002-0.02
L Middle temporal gyrus	21	-70	-48	-12	-2.45	460-980	-2.81/-2.38	0.008-0.02
R Superior parietal lobule	7	15	-68	68	-2.99	356-980	-3.48/-2.34	0.001-0.03
L Anterior cingulate gyrus	32	-10	32	43	-2.92	460-980	-3.19/-2.57	0.003-0.02
L Cuneus	18/19	-15	-93	33	-2.45	460-928	-2.54/-2.39	0.01-0.02
L Insula	13	-45	17	13	-2.21	512-772	-2.45/-2.39	0.01-0.02
L Superior frontal gyrus	8	-15	47	48	-2.75	564-980	-2.69/-2.65	0.01
R Superior frontal gyrus	6	25	42	53	-2.48	512-928	-2.56/-2.37	0.01-0.02
L Medial frontal gyrus	9	0	42	28	-2.51	668-876	-2.61/-2.58	0.01
R Inferior parietal lobe	40	65	-23	38	-2.72	356-980	-3.41/-2.23	0.001-0.04
R Middle occipital gyrus	19	55	-73	-7	-2.65	512-928	-3.39/-2.14	0.02-0.04
L Angular gyrus	39	-55	-63	38	-2.63	356-876	-3.88/-2.05	0.0005-0.02
R Supramarginal gyrus	40	65	-53	28	-2.31	408-980	-2.80/-2.30	0.009-0.02
R Medial frontal gyrus	9	15	17	48	-2.27	668-772	-2.52/-2.61	0.01-0.02

**Table 2. Cortical regions showing group differences in alpha ERD during the encoding and retrieval task.** The direction of the contrast indicates that the first group showed higher low-alpha ERD (i.e., higher decrease of alpha power) than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right;  $t$  =  $t$ -statistic at the source level;  $T$  = range of  $t$ -statistics in the time domain;  $p$  = range of  $p$  values in the time domain.

## Discussion

The present study revealed that aMCI-c at baseline, besides showing the lowest scores in associative memory were unable to benefit from semantic congruency. These memory deficits were associated with volume loss of hippocampus and amygdala and with a reduced capacity to engage control processes and to reactivate context-specific sensory information through desynchronizing mechanisms in the alpha/beta band during both encoding and memory retrieval. In consonance with these findings, the combination of MRI data with abnormal memory-related EEG oscillations provided the highest accuracy in predicting overt dementia. Particularly, atrophy of the right amygdala together with encoding-induced anomalies in alpha oscillations over the left PCC correctly classified aMCI-s and aMCI-c with a sensitivity of 78% and specificity of 82%, and with an overall accuracy of 81%.

Although the hippocampus has traditionally captured more attention than the amygdala, both structures are critically involved in memory processes and present a similar degree of volume loss in AD<sup>34,35</sup>. Nevertheless, it remains to be determined whether amygdala atrophy, like hippocampal atrophy<sup>36</sup>, accounts for the emotional changes occurring with disease progression. We found a higher degree of amygdala atrophy in aMCI-c than in aMCI-s, suggesting that the amygdala could be considered as a marker of dementia severity. Accordingly, reduction of the amygdala volume has been previously reported to predict the risk of progression to AD with a sensitivity of 76% and specificity

Contrast	Cortical region	BA	x	y	z	t	Time (ms)	T	p
<b>ENCODING TASK</b>									
<b>aMCI-s &gt; aMCI-c</b>									
$p_{\text{cluster}} < 10^{-5}$									
	R Superior frontal gyrus	6/8	35	2	68	-3.11	156-936	-2.41/-2.36	0.004-0.03
	R Postcentral gyrus	2	40	-23	33	-2.87	260-676	-2.37/-2.32	0.02-0.04
	L Anterior cingulate gyrus	24	0	2	28	-2.72	156-884	-2.39/-2.33	0.007-0.03
	R Inferior parietal lobe	40	45	-28	33	-2.56	0-624	-2.28/-2.22	0.02-0.04
	R Middle frontal gyrus	8	30	27	43	-2.54	624-780	-2.40/-2.28	0.02-0.03
	R Precentral gyrus	6	35	2	28	-2.39	572-780	-2.42/-2.24	0.02-0.03
	L Medial frontal gyrus	6	-5	12	53	-2.28	208-624	-3.19/-2.39	0.003-0.03
$p_{\text{cluster}} < 0.003$									
	L Postcentral gyrus	2	-40	-18	33	-2.81	208-1000	-3.26/-2.28	0.002-0.05
	L Superior temporal gyrus	41	-40	-28	13	-2.57	520-767	-2.50/-2.36	0.02-0.03
	L Precentral gyrus	4	-35	-13	43	-2.57	416-728	-2.51/-2.36	0.02-0.03
	L Middle frontal gyrus	6	-30	-8	43	-2.37	416-468	-2.30/-2.23	0.03-0.04
<b>RETRIEVAL TASK</b>									
<b>aMCI-s &gt; aMCI-c <math>p_{\text{cluster}} &lt; 0.006</math></b>									
	R Parahippocampal gyrus	30	35	-48	8	-2.56	408-720	-2.58/-2.14	0.02-0.04

**Table 3. Cortical regions showing group differences in beta ERD during the encoding and retrieval task.** The direction of the contrast indicates that the first group showed higher low-beta ERD (i.e., higher decrease of beta power) than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right;  $t$  =  $t$ -statistic at the source level;  $T$  = range of  $t$ -statistics in the time domain;  $p$  = range of  $p$  values in the time domain.

of 68%<sup>37</sup>. The present study suggests that the prediction accuracy of amygdala atrophy can be significantly improved by including in the model alterations in task-related EEG oscillations associated with memory deficits.

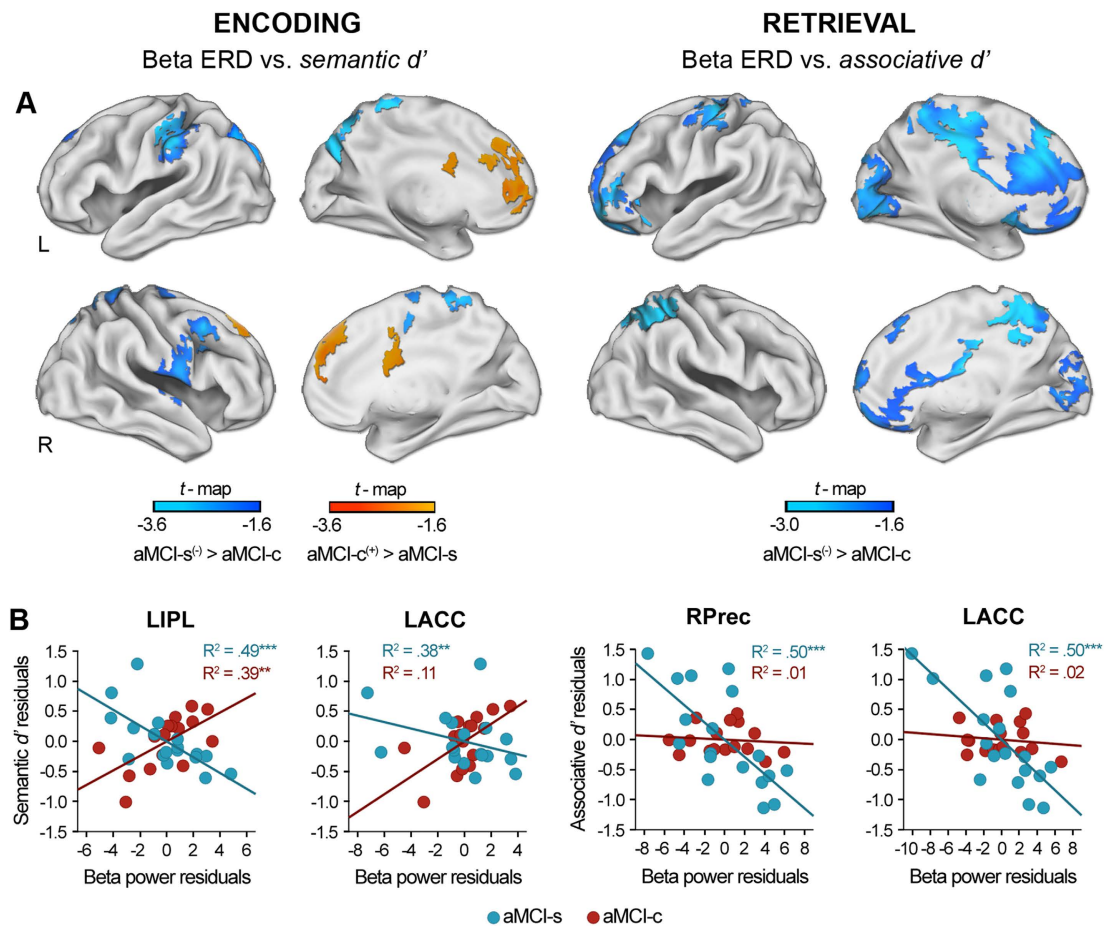
The relationship between alpha desynchronization and successful encoding/retrieval of episodic memories is well documented<sup>38</sup>. We believe that anomalies in the amplitude of alpha oscillations over PCC in parallel with memory deficits in aMCI-c may be a reflection of the early synaptic alterations in this particularly vulnerable region. In line with this idea, a postmortem tissue study found synaptic loss in the PCC of MCI accompanied by a decline of different synaptic markers, all of which were significantly associated with lower MMSE scores and with increased uptake of the amyloid PET tracer <sup>11</sup>C Pittsburgh compound B<sup>39</sup>. These synaptic alterations in the PCC might also account for the association between early A $\beta$  deposition and aberrant fMRI activity<sup>40</sup> as well as for abnormal local and long-range synchronization of EEG/MEG patterns during the resting state in MCI patients<sup>19,41-44</sup>. For instance, in one of these studies, MCI patients with reduced CSF A $\beta$ 42 levels showed decreased functional connectivity in the alpha band between the right PCC and lateral regions of the temporal cortex<sup>19</sup>.

Likely, the neurotoxic effects of A $\beta$  are not solely responsible for abnormal EEG oscillations in aMCI. In fact, reduction of microtubules through tau hyperphosphorylation and tau aggregation might also lead to disruption in the transport of molecules and organelles to and from the synapse, thereby resulting in synaptic dysfunction and axonal degeneration<sup>45</sup>. Thus, the above-mentioned MEG study<sup>19</sup> further reported decreased alpha synchronization in the right PCC associated with increased levels of CSF phosphorylated tau.

Finally, anomalies in memory-related EEG oscillations could also be partially due to disruption of fast synaptic inhibition mediated by  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) neurons. Extensive research suggests that GABAergic neurons play a critical role in generating network synchrony in general<sup>46</sup> and in the alpha band in particular<sup>47</sup>. In agreement with this hypothesis, MCI showed lower GABA levels in the PCC than HO in parallel with memory deficits<sup>48</sup>.

The amygdala and PCC are anatomically<sup>49,50</sup> and functionally<sup>51</sup> connected via the anterior cingulate/medial prefrontal cortex, and via the retrosplenial cortex and parahippocampal gyrus. Interestingly, all these cortical regions not only were associated with successful memory retrieval in aMCI-s, but they also showed abnormal alpha oscillatory activity in aMCI-c. Evidence further suggests that the amygdala and PCC are anatomically<sup>52</sup> and functionally<sup>53</sup> connected to the hippocampus, one of the first regions affected in AD. In fact, we have demonstrated here and in previous studies<sup>54</sup> that hippocampal volume loss is associated with impaired memory performance in the face-location memory task. Finally, it is well known that both the amygdala and PCC receive cholinergic projections from the basal forebrain complex, mainly from the nucleus basalis of Meynert<sup>55</sup>. This nucleus is severely affected by neurofibrillary degeneration and cell loss in AD<sup>56</sup>, supporting recent evidence showing a selective relationship between reduction of this cholinergic nucleus and amygdala atrophy in aMCI<sup>57</sup>. Collectively, evidence reviewed here suggests that a dysfunction and loss of basal forebrain cholinergic neurons together with synaptic and axonal alterations affecting amygdala, PCC, and PCC fiber tracts, likely account for the fact that amygdala atrophy and abnormal alpha oscillatory activity over PCC provided the most accurate prediction of aMCI to AD conversion.

Unlike MRI, cognitive and EEG measures revealed no differences between HO and aMCI-s individuals. However, the relationship between memory and neural oscillatory activity was stronger in aMCI-s than in HO, which points to the need for additional neural and cognitive resources in this population. In particular,



**Figure 3. Group differences in correlations between memory and beta ERD.** (A) Statistical nonparametric maps showing significant differences between aMCI-s and aMCI-c in correlations between beta ERD and memory performance (*semantic d'* and *associative d'*). Blue areas indicate that the higher the beta ERD over these regions the better the memory performance in aMCI-s with respect to aMCI-c. Orange areas indicate that the higher the beta ERD over these regions the lower the benefit from semantic congruence in aMCI-c with respect to aMCI-s. (B) Scatter plots illustrating the relationship between residuals of beta ERD and residuals of memory performance in the recognition task in a voxel showing local maxima in the correlation, for both aMCI-s and aMCI-c after regressing these variables on age. L = left; R = right; LIPL = left inferior parietal lobe; LACC = left anterior cingulate; RPrec = right precuneus; \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.005$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

associative memory in the aMCI-s group depended to a great extent on the frontoparietal network, while the benefit of congruency was associated with higher activation of the precuneus. Both the frontoparietal network<sup>58</sup> and the precuneus<sup>59</sup> exhibit connectivity with a variety of neural networks depending on current task demands. If oscillatory EEG changes observed in these brain systems serve a compensatory function, longer longitudinal studies will have to determine whether overuse of these regions make them more vulnerable to AD lesions, and consequently to dementia.

### Conclusions

The PCC is considered a major cortical hub in the human brain because it maintains dense structural connectivity to widespread regions involved in multiple memory functions and control processes<sup>60</sup>. Together with limbic structures like amygdala and hippocampus, PCC is one of the cortical regions most vulnerable to AD. The present study reinforces this idea. Indeed, we showed that the higher the EEG alpha desynchronization over PCC, the better the memory in aMCI-s, and that failures in this desynchronizing mechanism predicted AD conversion from aMCI better than amygdala atrophy. Nevertheless, the best predictive model was obtained when alpha oscillations over PCC were combined with volume loss of the amygdala, which highlights the importance of combining electrophysiological correlates of synaptic activity with MRI biomarkers of AD to anticipate dementia.

Although these results are promising, they must be considered as preliminary. Firstly, because the sample was not very large and over-fitting may still be present in spite of cross-validation. Secondly, because logistic

Contrast	Cortical region	BA	x	y	z	t	Time (ms)	T	p
<b>ENCODING TASK (semantic d' vs. beta ERD)</b>									
<b>aMCI-s<sup>(-)</sup> &gt; aMCI-c</b>									
<i>p</i> <sub>cluster</sub> < 0.003									
	L Postcentral gyrus	5	-10	-38	78	-3.74	624-884	-3.60/-3.11	0.005-0.04
	R Postcentral gyrus	7	10	-48	78	-3.30	0-936	-3.38/-2.95	0.004-0.04
	R Precuneus	7	30	-68	63	-2.81	572-1000	-3.46/-2.30	0.001-0.02
	R Superior parietal lobule	7	25	-63	68	-2.76	572-1000	-2.83/-2.22	0.004-0.02
<i>p</i> <sub>cluster</sub> < 0.005									
	L Cuneus	7	-20	-78	38	-4.13	520-832	-4.37/-3.35	0.001-0.04
	L Precuneus	19/7	-15	-78	48	-4.05	572-780	-4.16/-3.56	0.001-0.03
<i>p</i> <sub>cluster</sub> < 0.002									
	L Inferior parietal lobule	40	-55	-28	48	-3.85	520-1000	-4.34/-3.23	0.002-0.05
	L Inferior parietal lobule	40	-35	-33	43	-2.93	0-624	-3.14/-2.13	0.03-0.05
	R Middle frontal gyrus	6	50	7	43	-3.42	624-728	-3.30/-2.93	0.02-0.04
	R Precentral gyrus	6	55	7	48	-3.30	572-728	-3.09/-2.78	0.03-0.05
	R Postcentral gyrus	43	70	-3	13	-3.10	208-676	-3.14/-2.04	0.003-0.05
<b>aMCI-c<sup>(+)</sup> &gt; aMCI-s</b> <i>p</i> <sub>cluster</sub> < 0.003									
	L Cingulate gyrus	32	0	47	8	-2.71	624-676	-2.68/-2.63	0.02-0.03
	R Superior frontal gyrus	6	15	42	48	-2.66	416-676	-3.07/-2.64	0.004-0.03
	L Medial frontal gyrus	9	-10	37	28	-2.34	676-832	-2.65/-2.55	0.02-0.04
	R Posterior cingulate gyrus	23	5	-8	33	-2.30	832-1000	-2.50/-2.36	0.03-0.05
	L Anterior cingulate gyrus	24	-10	2	33	-2.22	624-832	-2.37/-2.14	0.03-0.05
<b>RETRIEVAL TASK (associative d' vs. beta ERD)</b>									
<b>aMCI-s<sup>(-)</sup> &gt; aMCI-c</b> <i>p</i> <sub>cluster</sub> < 0.04									
	R Posterior cingulate gyrus	31	25	-43	43	-4.12	252-1000	-4.15/-2.92	0.002-0.04
	L Superior frontal gyrus	6/8	-5	32	58	-3.32	512-1000	-3.79/-2.87	0.001-0.03
	R Precuneus	7	10	-58	68	-3.03	356-720	-3.31/-2.69	0.008-0.05
	R Superior parietal lobe	7	15	-63	68	-3.00	408-928	-3.01/-2.22	0.01-0.04
	L Superior frontal gyrus	10/11	-25	52	-17	-2.95	616-1000	-3.77/-2.80	0.001-0.02
	L Posterior cingulate gyrus	31	-5	-28	38	-2.92	252-1000	-3.98/-2.80	0.01-0.04
	L Anterior cingulate gyrus	32	-10	27	43	-2.89	564-1000	-3.62/-2.78	0.001-0.02
	L Paracentral lobule	6	0	-23	58	-2.78	252-928	-3.53/-2.60	0.008-0.04
	L Inferior parietal lobule	40	-35	-33	63	-2.75	668-876	-2.94/-2.78	0-0.04
	L Inferior frontal gyrus	47	-30	37	-7	-2.67	616-1000	-2.92/-2.45	0.02-0.05

**Table 4. Cortical regions showing group differences in correlations between semantic d' and beta ERD during the encoding task and between associative d' and beta ERD during the retrieval task.** The sign (-) indicates the presence of a significant negative correlation in that particular group, meaning that the lower the beta power, the higher the benefit of semantic congruence in that group. The sign (+) indicates just the opposite. The direction of the contrast indicates that the first group showed a stronger correlation than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right; t = t-statistic at the source level; T = range of t-statistics in the time domain; p = range of p values in the time domain.

Classifier	AUC (CI)	ACC%	SE%	SP%
R amygdala	0.75 (0.52-0.89)*	77.5*	74.4	79.2
αERD <sub>E</sub> L PCC	0.80 (0.60-0.92)*	81.3*	58.3	92.6*
αERD <sub>R</sub> L cuneus	0.77 (0.57-0.90)*	79.6*	75.4	71.7
<b>R amygdala + αERD<sub>E</sub> L PCC</b>	<b>0.82 (0.63-0.93)*</b>	<b>80.9*</b>	<b>77.7*</b>	<b>82.2*</b>
R amygdala + αERD <sub>R</sub> L cuneus	0.78 (0.56-0.90)*	80.0*	63.6	6.1*

**Table 5. Predictive values of each classifier for AD progression.** AUC = area under the curve; CI = confidence interval; ACC = accuracy; SE = sensitivity; SP = specificity; αERD<sub>E</sub> = alpha event-related desynchronization during encoding; αERD<sub>R</sub> = alpha event-related desynchronization during retrieval; PCC = posterior cingulate cortex; L = left; R = right; \*significant after permutation testing (p < 0.05). Bold type indicates the best fit model.

regression was applied to particular features that had been previously selected by analyzing the statistical characteristics of that particular sample and this can limit generalization capability. And thirdly, because two years is

a relatively short follow-up period, and new conversions are expected to occur at a similar rate in the following years. Consequently, future research is needed in order to validate the present model in an independent, larger sample including a longer follow-up period.

## References

- Galimberti, D. & Scarpini, E. Disease-modifying treatments for Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord* **4**, 203–216 (2011).
- Dubois, B. *et al.* Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement* **12**, 292–323 (2016).
- Jack, C. R. *et al.* Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol* **9**, 119–128 (2010).
- Haroutunian, V., Hoffman, L. B. & Beeri, M. S. Is there a neuropathology difference between mild cognitive impairment and dementia? *Dialogues Clin Neurosci* **11**, 171–179 (2009).
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E. & Hyman, B. T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **1**, a006189 (2011).
- Hedden, T. *et al.* Disruption of functional connectivity in clinically normal older adults harboring amyloid burden. *J Neurosci* **29**, 12686–12694 (2009).
- Drzezga, A. *et al.* Neuronal dysfunction and disconnection of cortical hubs in non-demented subjects with elevated amyloid burden. *Brain* **134**, 1635–1646 (2011).
- Elman, J. A. *et al.* Effects of beta-amyloid on resting state functional connectivity within and between networks reflect known patterns of regional vulnerability. *Cereb Cortex* **26**, 695–707 (2016).
- Kennedy, K. M. *et al.* Effects of beta-amyloid accumulation on neural function during encoding across the adult life-span. *Neuroimage* **62**, 1–8 (2012).
- Mormino, E. C. *et al.* A $\beta$  deposition in aging is associated with increases in brain activation during successful memory encoding. *Cereb Cortex* **22**, 1813–1823 (2012).
- Oh, H. & Jagust, W. J. Frontotemporal network connectivity during memory encoding is increased with aging and disrupted by beta-amyloid. *J Neurosci* **33**, 18425–18437 (2013).
- Cai, S. *et al.* Altered Functional Connectivity of Fusiform Gyrus in Subjects with Amnesic Mild Cognitive Impairment: A Resting-State fMRI Study. *Front Hum Neurosci* **9**, 471 (2015).
- Wang, P. *et al.* Aberrant intra- and inter-network connectivity architectures in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Sci Rep* **5**, 14824 (2015).
- Deiber, M. P. *et al.* Abnormal-induced theta activity supports early directed-attention network deficits in progressive MCI. *Neurobiol Aging* **30**, 1444–1452 (2009).
- Buscema, M., Grossi, E., Capriotti, M., Babiloni, C. & Rossini, P. The I.F.A.S.T. model allows the prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment with high degree of accuracy. *Curr Alzheimer Res* **7**, 173–187 (2010).
- Abuhassan, K., Coyle, D. & Maguire, L. Investigating the neural correlates of pathological cortical networks in Alzheimer's disease using heterogeneous neuronal models. *IEEE Trans Biomed Eng* **59**, 890–896 (2012).
- Abuhassan, K., Coyle, D. & Maguire, L. Compensating for thalamocortical synaptic loss in Alzheimer's disease. *Front Comput Neurosci* **8**, 65 (2014).
- Babiloni, C. *et al.* Stability of clinical condition in mild cognitive impairment is related to cortical sources of alpha rhythms: an electroencephalographic study. *Hum Brain Mapp* **32**, 1916–1931 (2011).
- Canuet, L. *et al.* Network Disruption and Cerebrospinal Fluid Amyloid-Beta and Phospho-Tau Levels in Mild Cognitive Impairment. *J Neurosci* **35**, 10325–10330 (2015).
- Prieto del Val, L., Cantero, J. L. & Atienza, M. APOE  $\epsilon$ 4 constrains engagement of encoding-related compensatory networks in amnesic mild cognitive impairment. *Hippocampus* **25**, 993–1007 (2015).
- Babiloni, C. *et al.* Global functional coupling of resting EEG rhythms is related to white-matter lesions along the cholinergic tracts in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *J Alzheimers Dis* **19**, 859–871 (2010).
- Babiloni, C. *et al.* Resting state cortical electroencephalographic rhythms are related to gray matter volume in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp* **34**, 1427–1446 (2013).
- Gonzalez-Escamilla, G., Atienza, M. & Cantero, J. L. Impaired cortical oscillatory coupling in mild cognitive impairment: anatomical substrate and ApoE4 effects. *Brain Struct Funct* **220**, 1721–1737 (2015).
- Gonzalez-Escamilla, G., Atienza, M., Garcia-Solis, D. & Cantero, J. L. Cerebral and blood correlates of reduced functional connectivity in mild cognitive impairment. *Brain Struct Funct* **221**, 631–645 (2016).
- López, M. E. *et al.* Alpha-band hypersynchronization in progressive mild cognitive impairment: a magnetoencephalography study. *J Neurosci* **34**, 14551–14559 (2014).
- Babiloni, C. *et al.* Hippocampal volume and cortical sources of EEG alpha rhythms in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neuroimage* **44**, 123–135 (2009).
- Moretti, D. V. *et al.* Increase of theta/gamma and alpha3/alpha2 ratio is associated with amygdalo-hippocampal complex atrophy. *J Alzheimers Dis* **17**, 349–357 (2009).
- Albert, M. S. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* **7**, 270–279 (2011).
- Risacher, S. L. *et al.* Baseline MRI predictors of conversion from MCI to probable AD in the ADNI cohort. *Curr Alzheimer Res* **6**, 347–361 (2009).
- Atienza, M., Crespo-García, M. & Cantero, J. L. Semantic congruence enhances memory of episodic associations: Role of theta oscillations. *J Cogn Neurosci* **23**, 75–90 (2011).
- Hanslmayr, S., Staresina, B. P. & Bowman, H. Oscillations and Episodic Memory: Addressing the Synchronization/Desynchronization Conundrum. *Trends Neurosci* **39**, 16–25 (2016).
- Pfurtscheller, G. & Lopes da Silva, F. H. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol* **110**, 1842–1857 (1999).
- Wechsler, D. Wechsler Memory Scale—Third Edition Manual. The Psychological Corporation (1997).
- Horinek, D., Varjassyová, A. & Hort, J. Magnetic resonance analysis of amygdalar volume in Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* **20**, 273–277 (2007).
- Klein-Koerkamp, Y. *et al.* Amygdalar atrophy in early Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **11**, 239–252 (2014).
- Sturm, V. E. *et al.* Heightened emotional contagion in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease is associated with temporal lobe degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 9944–9949 (2013).
- Liu, Y. *et al.* Analysis of regional MRI volumes and thicknesses as predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **31**, 1375–1385 (2010).
- Hanslmayr, S., Staudigl, T. & Fellner, M. C. Oscillatory power decreases and long-term memory: the information via desynchronization hypothesis. *Front Hum Neurosci* **6**, 74 (2012).

39. Scheff, S. W. *et al.* Synaptic change in the posterior cingulate gyrus in the progression of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **43**, 1073–1090 (2015).
40. Sperling, R. A. *et al.* Amyloid deposition is associated with impaired default network function in older persons without dementia. *Neuron* **63**, 178–188 (2009).
41. Başar, E. & Güntekin, B. A review of brain oscillations in cognitive disorders and the role of neurotransmitters. *Brain Res* **1235**, 172–193 (2008).
42. Moretti, D. V., Frisoni, G. B., Binetti, G. & Zanetti, O. Anatomical Substrate and Scalp EEG Markers are Correlated in Subjects with Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Front Psychiatry* **1**, 152 (2011).
43. Bian, Z. *et al.* Relative power and coherence of EEG series are related to amnesic mild cognitive impairment in diabetes. *Front Aging Neurosci* **6**, 11 (2014).
44. Wen, D., Zhou, Y. & Li, X. A critical review: coupling and synchronization analysis methods of EEG signal with mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci* **7**, 54 (2015).
45. Wolfe, M. S. The Role of Tau in Neurodegenerative Diseases and Its Potential as a Therapeutic Target. *Scientifica (Cairo)* **796024** (2012).
46. Gonzalez-Burgos, G. & Lewis, D. A. GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull* **34**, 944–961 (2008).
47. Başar, E. A review of alpha activity in integrative brain function: fundamental physiology, sensory coding, cognition and pathology. *Int J Psychophysiol* **86**, 1–24 (2012).
48. Riese, F. *et al.* Posterior cingulate  $\gamma$ -aminobutyric acid and glutamate/glutamine are reduced in amnesic mild cognitive impairment and are unrelated to amyloid deposition and apolipoprotein E genotype. *Neurobiol Aging* **36**, 53–59 (2015).
49. Stefanacci, L., Suzuki, W. A. & Amaral, D. G. Organization of connections between the amygdaloid complex and the perirhinal and parahippocampal cortices in macaque monkeys. *Journal of Comparative Neurology* **375**, 552–582 (1996).
50. Stein, J. L. *et al.* A validated network of effective amygdala connectivity. *NeuroImage* **36**, 736–745 (2007).
51. Chase, H. W., Moses-Kolko, E. L., Zevallos, C., Wisner, K. L. & Phillips, M. L. Disrupted posterior cingulate-amygdala connectivity in postpartum depressed women as measured with resting BOLD fMRI. *Soc Cogn Affect Neurosci* **9**, 1069–1075 (2014).
52. Beckmann, M., Johansen-Berg, H. & Rushworth, M. F. Connectivity-based parcellation of human cingulate cortex and its relation to functional specialization. *J Neurosci* **29**, 1175–1190 (2009).
53. Blessing, E. M., Beissner, F., Schumann, A., Brünner, F. & Bär, K. J. A data-driven approach to mapping cortical and subcortical intrinsic functional connectivity along the longitudinal hippocampal axis. *Hum Brain Mapp* **37**, 462–476 (2016).
54. Atienza, M. *et al.* Associative memory deficits in mild cognitive impairment: the role of hippocampal formation. *Neuroimage* **57**, 1331–1342 (2011).
55. Mesulam, M. M. & Geula, C. Nucleus basalis (Ch4) and cortical cholinergic innervation in the human brain: Observations based on the distribution of acetylcholinesterase and choline acetyltransferase. *J Comp Neurol* **275**, 216–240 (1988).
56. Vogels, O. J. *et al.* Cell loss and shrinkage in the nucleus basalis Meynert complex in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **11**, 3–13 (1990).
57. Cantero, J. L., Zaborsky, L. & Atienza, M. Volume loss of the nucleus basalis of Meynert is associated with atrophy of innervated regions in mild cognitive impairment. *Cereb Cortex* (in press).
58. Cole, M. W. *et al.* Multi-task connectivity reveals flexible hubs for adaptive task control. *Nat Neurosci* **16**, 1348–1355 (2013).
59. Utevsky, A. V., Smith, D. V. & Huettel, S. A. Precuneus is a functional core of the default-mode network. *J Neurosci* **34**, 932–940 (2014).
60. Leech, R., Braga, R. & Sharp, D. J. Echoes of the brain within the posterior cingulate cortex. *J Neurosci* **32**, 215–222 (2012).

### Acknowledgements

This work was supported by research grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (PSI2014-55747-R, SAF2011-25463); the Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise, Junta de Andalucía (P12-CTS-2327); and CIBERNED (CB06/05/1111).

### Author Contributions

M.A. and J.L.C. designed the study. L.P.d.V. and M.A. performed analysis and prepared Figures. All authors contributed to data interpretation and to writing the manuscript text, and reviewing of the manuscript.

### Additional Information

**Supplementary information** accompanies this paper at <http://www.nature.com/srep>

**Competing financial interests:** The authors declare no competing financial interests.

**How to cite this article:** Prieto del Val, L. *et al.* Atrophy of amygdala and abnormal memory-related alpha oscillations over posterior cingulate predict conversion to Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **6**, 31859; doi: 10.1038/srep31859 (2016).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

© The Author(s) 2016



**Atrophy of amygdala and abnormal memory-related alpha oscillations over posterior cingulate predict conversion to Alzheimer's disease**

Laura Prieto del Val, Jose L. Cantero, Mercedes Atienza\*

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

**1. Inclusion/exclusion criteria to participate in the study**

Inclusion criteria for HO were: (i) aged 50-80 years old; (ii) scores between 27 and 30 in the global cognitive status assessed using the Spanish version of the Mini Mental State Examination (MMSE) (Lobo et al., 1979); (iii) absence of cognitive impairment confirmed by neuropsychological testing; (iv) global score of 0 (no dementia) in the clinical dementia rating (CDR) (Hughes et al., 1982); (v) normal independence function, judged both clinically and by means of an interview for deterioration in daily living activities validated in the Spanish population (Böhm et al., 1998); and (vi) no presence of neurological or psychiatric illness. Depression was excluded in all three groups with the shorter version of the Geriatric Depression Scale (Yesavage et al., 1983).

Inclusion criteria for individuals with aMCI were: (i) aged 50-80 years old; (ii) MMSE scores between 24 and 30; (iii) subjective memory complaints corroborated by the informant; (iv) objective memory loss confirmed by the Spanish version of the Logical Memory subtest extracted from the Wechsler Memory Scale-Third Edition (Wechsler, 2004) (scorings 1.5 standard deviations below the age-appropriate mean); (v) absence of impairment in cognitive areas other than memory as revealed by neuropsychological testing; (vi) CDR global score of 0.5 (questionable dementia); (vii) normal independence function; (viii) no criteria for dementia; and (ix) no presence of neurological or psychiatric illness.

MRI was examined in all participants by a neurologist to rule out lesions such as territorial cerebral infarction, brain tumor, hippocampal sclerosis, and/or vascular malformations. Those participants with periventricular and/or deep white matter lesions,

as revealed by scores  $\geq 2$  on the Fazekas ischemic scale (Fazekas et al., 1987), were excluded from the study. Individuals with a history of stroke and/or significant cerebrovascular conditions, clinically significant sensory impairment, past or current alcohol abuse, or those consuming medication known to affect memory, were not allowed to participate. None of the participants were taking cholinesterase inhibitors, and/or psychiatric medication at the time of recruiting or during the study. The absence of secondary causes of cognitive deficits was assessed by laboratory tests including complete blood count, blood chemistry, vitamin B12/folate, and thyroid function.

The diagnosis of AD in the aMCI-c group was based on criteria established by the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) and by the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (DSM IV). These subjects should further present MMSE scores ranging from 12 to 28 and a CDR global score of 1 (mild dementia). Subjects were excluded from the analysis if any psychiatric or neurological illness other than AD was present, and if subjects presented with a systemic illness or signs of organ failure.

## **2. Partial Least Square (PLS) analysis at the sensor level**

We applied permutation tests to determine whether the effect of each latent variable reached statistical significance. For instance, to evaluate group differences in EEG oscillations (HO vs. aMCI; aMCI-s vs. aMCI-c), subjects were randomly reassigned 10,000 times without replacement to different experimental conditions (HO or aMCI; aMCI-s vs. aMCI-c), whereas for comparisons with the baseline period we permuted 10,000 times the pre- and post-stimulus period of interest within each subject. For testing correlations, the behavioral indices (i.e., *associative d'* and *semantic d'*) were permuted across subjects. Finally, we computed 2000 bootstrap estimations of the standard errors of the weights of the original variables to determine the significance of nonzero weights for the variables of the corresponding latent vector.

Within each time-frequency window where the PLS yielded significant results, we performed *t*-tests for related samples in the case of comparisons with baseline, *t*-tests for independent samples in the case of group differences, and Spearman correlations to evaluate the relationship between performance and the EEG power averaged over

significant sensors. Unlike Pearson correlations, Spearman correlations are quite robust to outliers and do not require that the joining distribution be multivariate normal. To correct the family-wise error (FWE) rate for all time point comparisons, the maximum-statistic approach was employed (Maris, 2004). For every time sample after the onset of the face-location association, we computed the corresponding statistic. This was repeated for each data randomization (N=1000), selecting the maximum (or minimum) statistic across all samples. The 95th quartile of the distribution derived from the selected maximum (or minimum) statistic was used as a critical threshold to retain or reject the null hypothesis of either no differences between experimental conditions or no correlation between normalized power and behavior.

### **3. Source modeling of EEG oscillations with beamforming**

We first obtained from single trials at the sensor level the constant field distribution of non-phase locked oscillatory activity for the frequency bin of interest (Guderian and Düzel, 2005). To this aim, we calculated phase differences between sensor pairs at each time point of each single trial for the frequency bin showing the maximum statistic after averaging those sensors where the PLS yielded significant differences. This procedure calculates, for each subject, the phase lag index of all sensors with respect to the sensor with the maximum power. Next, we applied the inverse wavelet transformation to bring oscillatory amplitude information back to the time domain. Consequently, the field distribution includes both absolute amplitude and phase information (for more details on the phase alignment procedure, see Guderian and Düzel, 2005).

Next, sources of EEG oscillations within the spectro-temporal interval of interest were estimated by using a beamforming approach with multiple constraints. A beamformer is a spatial filtering method designed to obtain brain electrical activity from a specific location by attenuating contributions from other locations (e.g., Van Veen et al., 1997). However, beamformers have difficulty in separating EEG sources highly correlated in time. To overcome this drawback, we used the dual-core beamformer approach that allowed us to identify the main pairs of correlated sources that co-existed in each individual dataset (Diwakar et al., 2011). We performed 1000 searches for each dataset and selected all source pairs separated by more than 5 cm that were found in more than 1.5% of the searches. Afterwards, a multiple-constrained beamformer with correlated source suppression was applied to obtain the ultimate spatial filters from the time-of-

interest and baseline mean covariate matrices, respectively. This procedure generates pseudo-z maps for each trial, which are computed as time-of-interest/baseline power map ratios (Van Veen et al., 1997). This normalization step was applied to reduce the undesired contribution of noise power, which increases with depth and distance from sensors (Vrba and Robinson, 2001).

The cortical space was divided into a regular 5-mm voxel grid, and sensor outputs from unit dipoles in the three Cartesian directions were computed at each grid location. We used a realistic boundary-element model (Oostenveld et al., 2001) based on a standard template (Colin27 T1-weighted averaged MRI). This volume conduction model consists of 3 closed compartments with conductivities of 0.33, 0.0042 and 0.33 S/m corresponding to skin, skull, and brain, respectively. The regularization parameter was set at 0.001% of the largest eigenvalue of the covariance matrices.

After obtaining results derived from the corresponding statistical analyses, peak voxels and local maxima were selected to reconstruct the time course of EEG sources. We first obtained the optimal dipole orientation (Equation 8, Gross et al., 2001), then computed the power estimates using the voxel spatial filters and the mean covariate matrix of the time-of-interest described previously (Equations 4 and 5, Gross et al., 2001). Next, the optimal spatial filter was obtained by multiplying every optimal orientation value by its corresponding voxel spatial filters. The output of this computation was then multiplied by the filtered signal in the corresponding frequency bin of interest. Power decreases/increases relative to the baseline were computed in single-trial EEG source signals, as performed at the sensor level.

#### **4. Statistical analysis of EEG oscillations at the source level**

Firstly, the effect of age was removed from single-trial estimates at the source level using the general lineal model (Stolk et al., 2013). Secondly, we used a hierarchical statistical model to reduce the influence of inter-subject variability in oscillatory responses derived from across-subjects analyses (Holmes and Friston, 1998). Briefly, voxel-wise statistical analyses were computed for each participant on the original source activation maps obtained from all trials (or from congruent and incongruent trials, separately). Next, the corresponding contrast was applied at the group level. Individual analyses included comparisons with the baseline (one-sample *t*-tests), whereas at the

group level, we evaluated the main effect of group (HO vs. aMCI, aMCI-s vs. aMCI-c) and Spearman correlations (across-subjects and within each group, separately) with different memory indices (i.e., *associative d'* and *semantic d'*) on the *t*-maps or *r*-maps derived from the previous step. If these correlations reached statistical significance in at least one of the two groups, between-group analyses were performed using the Fisher method for independent samples applied to correlations. To this aim, *r*-maps were first transformed to *z*-score maps for each group and then the corresponding Fisher test was applied to obtain *z*-statistic values.

In order to avoid biasing the signal-to-noise ratio resulting from differences in the number of subjects per group, we first performed 1000 random draws of the data into two similar-sized groups, keeping the original assignment of the group fixed. Next, two-sample *t*-tests were applied on each draw, obtaining a distribution of 1000 *t*-values for each voxel. The statistical maps were obtained by computing the median *t*-value of each voxel distribution.

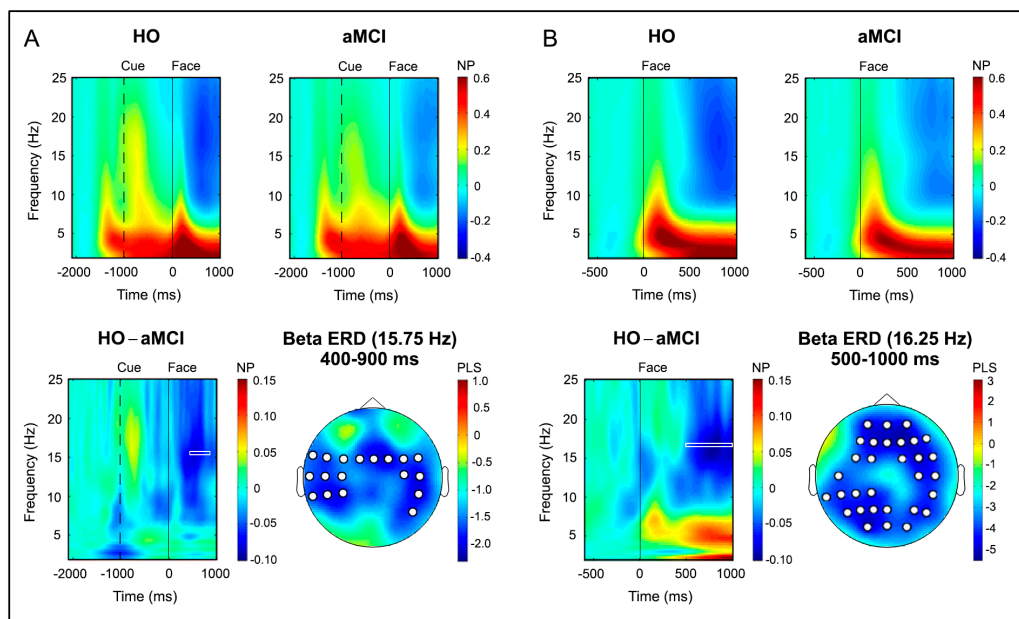
Family wise error (FWE) rates were controlled by applying non-parametric permutation tests combined with suprathreshold cluster analyses (Nichols and Holmes, 2002). Before cluster analysis, all *r*-, *t*- or *z*-statistic and mean activation maps were smoothed with an isotropic Gaussian kernel of 10 mm. The cluster was defined from the sum of the *t*-, *r*-, or *z*-values of contiguous voxels (cluster mass). After applying a primary threshold to voxels, *p*-values ( $\alpha=0.05$ ) were assessed by means of 1000 permutations using the Monte Carlo method implemented in the Fieldtrip toolbox. Coordinates of peak voxels and local maxima statistic values within each significant cluster were transformed into the Talairach space (Talairach and Tournoux, 1988) by using a nonlinear transformation. Cluster voxels were labeled according to the Brodmann area (BA) atlas included in the WFU Pick Atlas toolbox (Maldjian et al., 2003), using the same brain template employed for EEG source analyses. Finally, the signal of different local maximal was transformed into the time domain. The FWE rate across time was corrected with the maximum statistic approach (Nichols and Holmes, 2002).

## 5. Results at the sensor level

Fig. S1 shows the time-frequency representation (TFR) averaged across sensors and subjects for HO and aMCI individuals during the encoding (Fig. S1A) and memory task

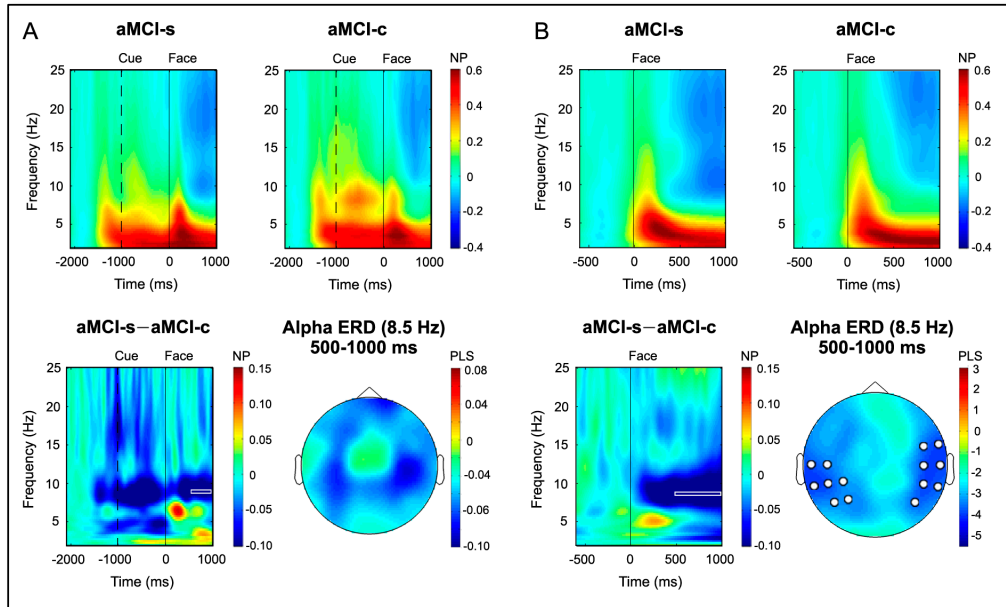
(Fig. S1B). During these two phases, the two groups exhibited increased power in the low frequencies (i.e., delta and theta) with respect to the baseline during the entire interval of analysis following face presentation, as well as decreased power in alpha and beta bands from around 500 to 1000 ms from the face onset. However, PLS differences were restricted to the beta band. In particular, HO showed a significantly decrease of beta power (i.e., higher beta ERD) when compared with aMCI, both during the encoding (14-25 Hz; 0-1000 ms;  $p < 0.04$ ) and subsequent memory task (13.5-18 Hz; 700-1000 ms;  $p < 0.05$ ).

During encoding and within the beta band, HO could further be distinguished from both aMCI-c (13-16 Hz; 200-600 ms;  $p < 0.05$ ) and aMCI-s individuals (13-17 Hz; 300-700 ms;  $p < 0.03$ ). Similar results were obtained during the memory task, where HO showed higher beta ERD when compared with aMCI-c (13.5-18 Hz; 700-1000 ms;  $p < 0.05$ ), although differences with aMCI-s did not achieve statistical significance.



**Figure S1. Group differences between HO and aMCI at the sensor level.** Grand-average time-frequency representations (TFR) of normalized power (NP) for HO and aMCI (on the top) and difference between them (on the bottom) during both encoding (A) and retrieval (B). The small white frames in the difference TFR indicate the time-frequency windows used for source estimation of EEG beta power. Scalp distribution of values derived from PLS within these time-frequency windows are shown on the right. Open white circles over the scalp indicate sensors where differences in the NP between HO and aMCI reached statistical significance.

As illustrated in Fig. S2, aMCI-s showed higher alpha ERD than aMCI-c during the encoding (Fig. S2A) and memory task (Fig. S2B), for the whole 1000-ms poststimulus interval. However, the PLS only revealed significant differences between the two groups in the memory task (8-12 Hz; 0-1000 ms;  $p < 0.04$ ).



**Figure S2. Group differences between aMCI-s and aMCI-c at the sensor level.** Grand-average time-frequency representations (TFR) of normalized power (NP) for aMCI-s and aMCI-c (on the top) and difference between them (on the bottom) during both encoding (A) and retrieval (B). The small white frames in the difference TFR indicate the time-frequency windows used for source estimation of EEG alpha power. Scalp distribution of values derived from PLS within these time-frequency windows are shown on the right. Open white circles over the scalp indicate sensors where differences in the NP between aMCI-s and aMCI-c reached statistical significance. Note that these differences only achieved statistical significance during retrieval.

After averaging the EEG power over the sensors showing a significant decrease of beta power in the PLS, the maximum  $t$ -statistic after correcting for multiple comparisons across time was located at 15.75 Hz in the encoding task and at 16.25 Hz in the memory task at different time points depending on group comparisons. EEG sources for the former were estimated in the 400-900-ms interval, and for the latter in the 500-1000-ms window, given that the PLS within these time periods also revealed a significant decrease of power with respect to the baseline. For the alpha band, the maximum statistic after comparing the aMCI groups during the memory task was located at 8.5 Hz

in the 800 ms time point. Accordingly, the EEG sources of this activity were estimated within 500 and 1000 ms from face onset. As differences between aMCI-s and aMCI-c were also evident during encoding at 8.5 Hz within 700 and 1000 ms after applying the *t*-test ( $p_{corrected} < 0.05$ ), and as the PLS showed a significant decrease with respect to the baseline from 500 up to 1000 ms after face presentation, we decided to further estimate EEG sources of this activity during encoding in the 500-1000-ms interval.

## 6. Differences in alpha/beta between HO and aMCI groups at the source level

During encoding, aMCI-c showed decreased alpha ERD with respect to HO ( $p_{cluster} < 0.001$ ) on a cortical widespread network comprising the fusiform, inferior temporal gyrus, temporoparietal junction and dorsolateral prefrontal cortex of the left hemisphere (Fig. S3A, Table S1). Differences with HO emerged in aMCI-c at around 200 ms after face presentation in the fusiform gyrus, to later spread to the temporal (at 312 ms), frontal (at 364 ms) and parietal lobe (at 468 ms).

**Table S1.** Cortical regions showing group differences in alpha ERD during the encoding and memory task.

Contrast Cortical region	BA	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>t</i>	Time (ms)	<i>T</i>	<i>p</i>
<b>ENCODING TASK</b>								
<b>HO &gt; aMCI-c</b> $p_{cluster} < 0.001$								
L Precentral gyrus	6	-40	-3	28	-1.03	468-980	-3.39/-2.29	0.0003-0.03
L Middle frontal gyrus	6	-40	7	53	-1.01	364-980	-4.77/-3.07	0.0003-0.03
L Fusiform gyrus	19	-50	-73	-12	-0.90	208-980	-3.44/-2.25	0.002-0.04
L Inferior parietal lobe	40	-55	-28	33	-0.90	468-980	-3.33/-2.53	0.002-0.02
L Superior temporal gyrus	22	-65	-53	23	-0.89	312-980	-3.30/-2.21	0.002-0.04
L Inferior temporal gyrus	20	-65	-48	-22	-0.77	416-980	-3.11/-2.19	0.004-0.04
L Middle temporal gyrus	39	-45	-73	28	-0.76	520-980	-2.70/-2.29	0.01-0.03
<b>MEMORY TASK</b>								
<b>HO &gt; aMCI-c</b> $p_{cluster} < 0.005$								
L Superior temporal gyrus	22	-65	-53	23	-0.97	460-980	-3.69/-2.59	0.0007-0.02
L Middle temporal gyrus	19	-55	-63	18	-0.94	408-980	-4.44/-2.51	0.0001-0.02

The direction of the contrast indicates that the first group showed higher low-alpha ERD (i.e., higher decrease of alpha power) than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right; *t* = *t*-statistic at the source level; *T* = range of *t*-statistics in the time domain; *p* = range of *p* values in the time domain.

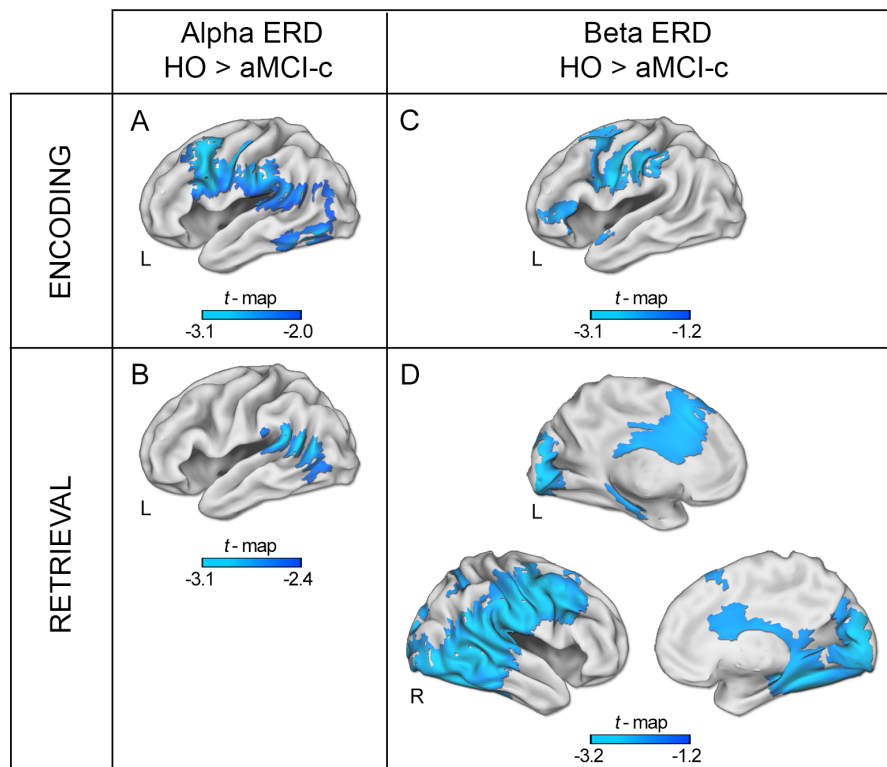


The aMCI-c group also showed decreased alpha ERD with respect to HO during retrieval, but differences were mostly limited to the left temporoparietal junction ( $p_{cluster} < 0.005$ ; Fig. S3B, Table S1). As in the encoding task, no differences were observed when the aMCI groups were compared.

**Table S2.** Cortical regions showing group differences in beta ERD during the encoding and memory task.

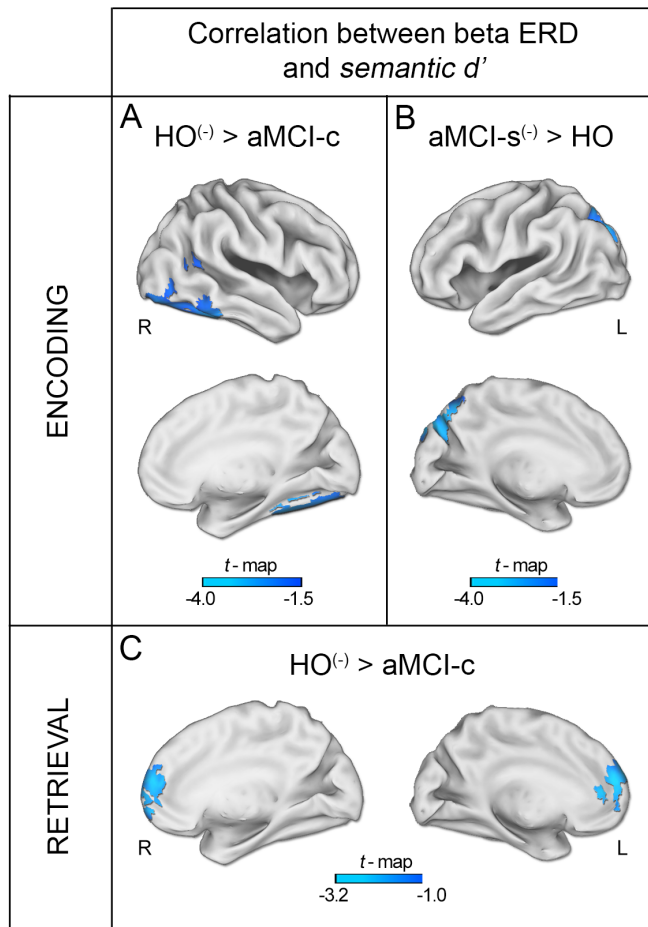
Contrast Cortical region	BA	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>t</i>	Time (ms)	<i>T</i>	<i>p</i>
<b>ENCODING TASK</b>								
<b>HO &gt; aMCI-s</b> $p_{cluster} < 0.03$								
R Superior temporal gyrus	38	60	12	-17	-2.27	364-980	-3.56/-2.34	0.0009-0.02
<b>HO &gt; aMCI-c</b>								
$p_{cluster} < 0.003$								
L Postcentral gyrus	2	-50	-13	33	-1.07	104-936	-5.05/-2.39	0.0001-0.02
L Inferior parietal lobe	40	-60	-38	43	-0.92	208-936	-4.31/-2.39	0.0001-0.03
L Middle frontal gyrus	6	-35	2	63	-0.92	312-980	-3.86/-2.33	0.004-0.03
L Superior frontal gyrus	6	-30	2	68	-0.90	312-980	-4.00/-2.27	0.0003-0.03
$p_{cluster} < 0.05$								
L Inferior frontal gyrus	44	-60	22	8	-0.80	572-728	-2.44/-2.32	0.02-0.03
L Superior temporal gyrus	22	-55	12	-2	-0.76	416-676	-2.50/-2.26	0.02-0.03
<b>RETRIEVAL TASK</b>								
<b>HO &gt; aMCI-c</b> $p_{cluster} < 0.02$								
R Postcentral gyrus	3	55	-8	48	-3.46	616-980	-3.82/-2.77	0.0004-0.01
R Supramarginal gyrus	40	65	-53	23	-3.38	668-876	-2.84/-2.51	0.006-0.02
R Inferior parietal lobe	40	60	-23	33	-3.34	616-980	-3.40/-2.45	0.002-0.02
R Superior temporal gyrus	22	65	-48	13	-3.31	512-928	-3.55/-2.34	0.001-0.03
R Middle occipital gyrus	18/19	10	-98	23	-3.24	512-980	-4.05/-2.67	0.0002-0.01
R Cuneus	18/19	15	-93	28	-3.18	564-928	-3.60/-2.24	0.0008-0.03
R Fusiform gyrus	37	40	-48	-12	-3.11	668-876	-2.69/-2.47	0.01-0.02
R Middle frontal gyrus	6/8	55	17	43	-2.84	616-980	-3.43/-2.46	0.002-0.02
L Lingual gyrus	17/18	-10	-103	-12	-2.75	720-928	-2.96/-2.42	0.005-0.02
L Superior frontal gyrus	6	-10	17	53	-2.57	408-980	-2.96/-2.09	0.005-0.02
R Parahippocampal gyrus	30	15	-33	-7	-2.53	720-876	-2.60/-2.48	0.01-0.02
L Anterior cingulate gyrus	24	-5	12	33	-2.48	512-980	-3.28/-2.37	0.002-0.02
R Precuneus	7	25	-58	43	-2.37	772-980	-2.80/-2.49	0.007-0.02
R Posterior cingulate gyrus	23	5	-28	28	-2.37	564-876	-2.71/-2.34	0.009-0.03

The direction of the contrast indicates that the first group showed higher low-beta ERD (i.e., higher decrease of beta power) than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right; *t* = *t*-statistic at the source level; *T* = range of *t*-statistics in the time domain; *p* = range of *p* values in the time domain.



**Figure S3. Group differences between HO and aMCI-c in alpha and beta band.** Statistical nonparametric maps showing higher alpha ERD in HO than in aMCI-c during encoding (A) and retrieval (B), and higher beta ERD in HO than in aMCI-c during encoding (C) and retrieval (D). The blue gradient is mapped to statistical values (t-statistic). Peak voxels of significant clusters are listed in Table S1 and Table S2. L = left; R = right.

In the beta band, analyses further revealed significant differences between HO and the aMCI groups. During encoding, HO showed higher beta ERD in comparison with both the aMCI-s group in the right superior temporal gyrus ( $p_{cluster} < 0.03$ ), and the aMCI-c group in the left inferior parietal lobe and left motor areas ( $p_{cluster} < 0.003$ ) from very early in time (around 100-200 ms from face onset), and at about 600 ms in the left inferior frontal gyrus ( $p_{cluster} < 0.05$ ; Fig. S3C, Table S2). However, during the memory task, HO showed lower beta power when compared to aMCI-c ( $p_{cluster} < 0.02$ ), but not in comparison with aMCI-s. These differences were mostly evident from 400-500 ms onwards in the medial aspects of the left frontal, temporal and occipital lobe as well as in the lateral and medial aspects of a wide region in the right hemisphere mainly comprising the posterior part of frontal, parietal and temporal lobes (Fig. S3D, Table S2).



**Figure S4. Relationship between beta ERD and the beneficial effect of semantic congruence on memory.** Statistical nonparametric maps showing significant differences between HO and aMCI-c for the correlation between beta ERD and the *semantic d'* index during encoding (A) and retrieval (B). The blue gradient is mapped to statistical values (t-statistic). Peak voxels of significant clusters are listed in Table S3. L = left; R = right.

**Table S3.** Cortical regions showing group differences in correlations between beta ERD and *semantic d'* during the encoding and memory task.

Contrast Cortical region	BA	x	y	z	t	Time (ms)	T	p
<b>ENCODING TASK</b>								
<b>HO<sup>(-)</sup> &gt; aMCI-c <math>p_{cluster} &lt; 0.002</math></b>								
R Parahippocampal gyrus	19	30	-48	-7	-2.82	676-980	-3.44/-2.49	0.007-0.05
R Inferior occipital gyrus	18	40	-88	-12	-2.65	0-980	-3.99/-2.57	0.001-0.02
R Middle temporal gyrus	19	40	-63	13	-2.07	0-980	-3.71/-1.43	0.007-0.04
<b>aMCI-s<sup>(-)</sup> &gt; HO <math>p_{cluster} &lt; 0.02</math></b>								
L Cuneus	19	-15	-88	43	-3.27	572-832	-2.79/-2.44	0.007-0.02
L Precuneus	7	-10	-78	43	-3.23	572-936	-3.23/-2.58	0.007-0.03
<b>RETRIEVAL TASK</b>								
<b>HO<sup>(-)</sup> &gt; aMCI-c<sup>(+)</sup> <math>p_{cluster} &lt; 0.04</math></b>								
L Superior frontal gyrus	8	-15	57	33	-3.28	512-824	-3.39/-2.59	0.006-0.04
L Medial frontal gyrus	9	0	47	18	-2.75	668-824	-2.74/-2.31	0.02-0.05

The sign (-) indicates the presence of a significant negative correlation in that particular group, meaning that the lower the beta power, the higher the benefit of semantic congruence in that particular group. The sign (+) indicates just the opposite. The direction of the contrast indicates that the first group showed a stronger correlation than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right; *t* = *t*-statistic at the source level; *T* = range of *t*-statistics in the time domain; *p* = range of *p* values in the time domain.

HO showed a stronger negative correlation between the benefit of semantic congruence and differences in the power of beta ERD between SCF and SIF when compared to aMCI-c during encoding ( $p_{cluster} < 0.002$ ) and retrieval ( $p_{cluster} < 0.04$ ). During the encoding task, these differences appeared in the right fusiform and lingual gyrus from face onset until the end of the analysis time interval, whereas differences in the right parahippocampal cortex began to be evident at around 700 ms until the end of the analysis interval (Figure S4A, Table S3). During the memory task, differences were only seen from 500 ms poststimulus onward in the medial prefrontal lobe (Figure S4C, Table S3). This correlation further distinguished the aMCI-s group from HO during encoding ( $p_{cluster} < 0.02$ ). These results were limited to cuneus and precuneus in the left hemisphere ( $p_{cluster} < 0.05$ ; Figure S4B, Table S3).

During retrieval, the aMCI-s group further showed a significantly stronger correlation between beta ERD and associative memory in a wide cortical network when compared with both HO ( $0.005 < p_{cluster} < 0.02$ ) and aMCI-c ( $p_{cluster} < 0.04$ ) individuals. The results are listed in Table S4.

**Table S4.** Cortical regions showing group differences in correlations between beta ERD and *associative d'* during the memory task.

Contrast Cortical region	BA	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>t</i>	Time (ms)	<i>T</i>	<i>p</i>
<b>aMCI-s<sup>(-)</sup> &gt; HO</b>								
<b><i>p</i><sub>cluster</sub> &lt; 0.005</b>								
L Superior frontal gyrus	6	0	37	63	-3.56	668-1000	-3.29/-2.65	0.002-0.03
L Superior frontal gyrus	9/10	-15	57	28	-3.01	512-928	-3.57/-2.38	0.001-0.05
R Cingulate gyrus	31	20	-38	43	-2.81	304-928	-3.02/-2.43	0.02-0.05
L Middle frontal gyrus	46	-50	47	18	-2.79	616-1000	.21/-2.33	0.003-0.05
R Superior frontal gyrus	10	15	72	18	-2.76	460-1000	.92/-2.33	0.009-0.04
R Precuneus	7	10	-58	68	-2.73	304-876	.59/-2.29	0.02-0.04
L Cingulate gyrus	24	-10	17	23	-2.50	564-1000	.74/-2.39	0.006-0.03
<b><i>p</i><sub>cluster</sub> &lt; 0.01</b>								
R Lingual gyrus	17/18	10	-103	-12	-3.11	512-1000	-3.31/-2.61	0.008-0.04
R Cuneus	18	25	-103	3	-2.83	460-1000	-3.46/-2.57	0.003-0.05
R Middle occipital gyrus	18/19	35	-93	18	-2.33	616-772	-2.42/-2.26	0.01-0.03
<b><i>p</i><sub>cluster</sub> &lt; 0.02</b>								
R Middle frontal gyrus	10	50	52	-7	-3.26	460-1000	-3.34/-2.28	0.005-0.05
R Middle frontal gyrus	46	55	37	18	-3.06	668-1000	-3.13/-2.38	0.005-0.05
R Inferior frontal gyrus	45	45	27	8	-2.93	616-1000	-3.41/-2.59	0.007-0.03
R Insula	50	3	-2	13	-2.64	668-1000	-2.88/-2.54	0.002-0.006
R Superior temporal gyrus	22	60	-8	3	-2.37	772-1000	-2.67/-2.47	0.03-0.04
R Posterior cingulate	2	70	-18	13	-2.31	668-1000	.44/-2.37	0.008-0.009
R Supramarginal gyrus	40	50	-38	38	-2.12	824-928	.65/-2.47	0.03-0.04
R Middle frontal gyrus	10	50	52	-7	-3.26	460-1000	.34/-2.28	0.005-0.05

The sign (-) indicates the presence of a significant negative correlation in that particular group, which means that the lower the beta power, the higher the associative memory in that particular group. The direction of the contrast indicates that the first group showed a stronger correlation than the second group. BA = Brodmann area; L = left; R = right; *t* = *t*-statistic at the source level; *T* = range of *t*-statistics in the time domain; *p* = range of *p* values in the time domain.

### 7. Correlation between alpha power and associative memory in aMCI-s individuals.

**Table S5.** Cortical regions showing a significant correlation across aMCI-s individuals between *associative d'* and alpha ERD during the encoding and retrieval task.

<b>Contrast</b>		BA	x	y	z	t	Time (ms)	T	p
Cortical region									
<b>ENCODING TASK</b>									
<b>aMCI-s</b>									
<b><math>p_{\text{cluster}} &lt; 0.005</math></b>									
L Supramarginal gyrus		40	-60	-48	33	-0.65	468-988	-0.54/-0.81	$10^{-4}$ -0.02
L Posterior cingulate		31	-20	-43	38	-0.63	676-988	-0.55/-0.6	0.009-0.01
L Inferior parietal lobe		40	-65	-38	28	-0.60	520-988	-0.52/-0.8	$10^{-4}$ -0.02
L Parahippocampal gyrus		28	-20	-13	-17	-0.58	572-988	-0.55/-0.66	0.003-0.01
L Middle temporal gyrus		39	-40	-58	23	-0.53	676-936	-0.51/-0.57	0.01-0.03
<b>RETRIEVAL TASK</b>									
<b>aMCI-s</b>									
<b><math>p_{\text{cluster}} &lt; 0.03</math></b>									
R Precuneus		7	20	-63	53	-0.73	512-980	-0.55/-0.81	$10^{-4}$ -0.01
L Superior temporal gyrus		22	-65	-48	23	-0.69	408-980	-0.56/-0.80	$10^{-4}$ -0.01
R Inferior temporal gyrus		37	60	-48	-22	-0.68	512-980	-0.53/-0.81	$10^{-4}$ -0.02
R Fusiform gyrus		37	60	-63	-12	-0.67	460-980	-0.48/-0.81	$10^{-4}$ -0.01
R Superior parietal lobule		7	25	-53	68	-0.63	408-980	-0.61/-0.83	0.001-0.02
L Inferior parietal lobule		40	-65	-33	23	-0.62	304-980	-0.54/-0.72	0.001
R Cuneus		19	25	-93	33	-0.61	564-980	-0.57/-0.78	0.001-0.01

BA = Brodmann area; L = left; R = right; *t* = *t*-statistic at the source level; *T* = range of *t*-statistics in the time domain; *p* = range of *p* values in the time domain.

## References

- Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernández G, Sol JM, Blesa R. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities NORMACODEM Group. *Int Psychogeriatr* 1998; 10:261-70.
- Diwakar M, Huang MX, Srinivasan R, Harrington DL, Robb A, Angeles A, Muzzatti L, Pakdaman R, Song T, Theilmann RJ, Lee RR. Dual-Core Beamformer for obtaining highly correlated neuronal networks in MEG. *Neuroimage* 2011; 54:253-63.
- Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI., Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am J Neuroradiol* 1987; 8:421-6.
- Gross J, Kujala J, Hämäläinen M, Timmermann L, Schnitzler A, Salmelin R. Dynamic imaging of coherent sources: Studying neural interactions in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:694-9.
- Guderian S, Düzel E. Induced theta oscillations mediate large- scale synchrony with mediotemporal areas during recollection in humans. *Hippocampus* 2005; 15:901-12.
- Holmes AP, Friston KJ. Generalisability, random effects and population inference. *Neuroimage* 1998; 7:S754.
- Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Brit J Psychiat* 1982; 140:566-72.
- Lobo A, Escobar V, Ezquerro J, Seva Díaz A. "El Mini-Examen Cognoscitivo"(Un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectuales en pacientes psiquiátricos). *Rev Psiquiat Psicol Med* 1980; 14:39-57.
- Maldjian JA, Laurienti PJ, Kraft RA, Burdette JH. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *Neuroimage* 2003; 19:1233-9.
- Maris E. Randomization tests for ERP topographies and whole spatiotemporal data matrices. *Psychophysiology* 2004; 41:142-51.
- Nichols TE, Holmes AP. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: A primer with examples. *Hum Brain Mapp* 2002; 15:1-25.
- Oostenveld R, Praamstra P, Stegeman DF, van Oosterom A. Overlap of attention and movement-related activity in lateralized event-related brain potentials. *Clin Neurophysiol* 2001; 112:477-84.
- Stolk A, Todorovic A, Schoffelen JM, Oostenveld R. Online and offline tools for head movement compensation in MEG. *Neuroimage* 2013; 68:39-48.
- Talairach J, Tournoux P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. New York: Thieme Medical Publishers. 1988.
- Van Veen BD, Van Drongelen W, Yuchtman M, Suzuki A. Localization of brain electrical activity via linearly constrained minimum variance spatial filtering. *IEEE Trans Biomed Eng* 1997; 44:867-80.
- Vrba J, Robinson SE. Signal processing in magnetoencephalography. *Methods* 2011; 25:249-71.
- Wechsler, D. Wechsler Memory Scale—Third Edition Manual. San Antonio, TX: The Psychological Corporation. 1997.
- Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O. Development and validation of a geriatric depression scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res* 1983; 17:37-49.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999; 56:303-8.

Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, Nordberg A, Bäckman L, Albert M, Almkvist O, Arai H, Basun H, Blennow K, de Leon M, DeCarli C, Erkinjuntti T, Giacobini E, Graff C, Hardy J, Jack C, Jorm A, Ritchie K, van Duijn C, Visser P, Petersen RC. Mild cognitive impairment - beyond controversies, towards a consensus. *J Intern Med* 2004; 256:240-6.





