

CAMBIOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DEL HIPOCAMPO EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

GRADO EN PSICOLOGÍA.

Convocatoria Junio 2015



Autor/a: Beatriz Martínez Bronchal. 18455912E

Tutor/a: Cristina Forn Frías

ÍNDICE.

<i>Índice de abreviaturas</i>	4
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. METODOLOGÍA.....	13
2.1. Participantes.	13
2.2. Valoración neuropsicológica.....	14
2.3. Adquisición de neuroimagen.	14
2.4. Preprocesado de las Imágenes Estructurales.	15
2.5. Preprocesado de las Imágenes Funcionales.....	15
2.6. Análisis Estadístico de segundo nivel.....	16
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Resultados neuropsicológicos.....	17
3.2. Resultados volumétricos.....	18
3.3. Resultados conectividad funcional.	19
4. DISCUSIÓN.....	21
5. REFERENCIAS.	23

Índice de abreviaturas:

BBNR: Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test.

BPF: Brain Parenchymal Fraction.

CF: Conectividad Funcional.

CI: Cociente Intelectual.

DARTEL: Dimorphic Diffeomorphic Anatomical Registration Exponentiated Lie algebra

EDSS: Expanded Disability Status Scale.

EM: Esclerosis Múltiple.

FSS: Fatigue Severity Scale.

MNI= Montreal Neurological Institute.

RR: Remitente - Recurrente.

ROI: Region Of Interest.

SB: Sustancia Blanca.

SCA: Síndrome Clínico Aislado.

SG: Sustancia Gris.

SMDT: Symbol Digit Modalities Test.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SP: Secundaria - Progresiva.

SPART: Spatial Recall Test

SPM - Statistical Parametric Mapping

SRT: Selective Reminding Test

SVC: Small Volume Correction.

PP: Primaria - Progresiva.

PASAT: Paced Auditory Serial Addition Test.

RMf: Resonancia Magnética funcional.

VBM: Voxel Based Morphometry.

WAIS-III: Weschler Adult Intelligence Scale III.

WLGT: Word List Generation Test.

Zv: Puntuación Z memoria verbal.

Zvi: Puntuación Z memoria visual.

Resumen.

Una de las alteraciones más destacadas en los pacientes de esclerosis múltiple (EM) son los problemas de memoria a largo plazo, tanto verbal como visual, procesos que están relacionados con el hipocampo. En el presente estudio han participado 78 pacientes diagnosticados de EM (59 de EM Recurrente-Remitente (RR) y 19 de EM secundaria progresiva (SP)) comparados con un grupo de 19 controles sanos, todos ellos valorados con la batería neuropsicológica breve Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BBNR). Los objetivos de este trabajo son estudiar una posible reducción del volumen de SG del hipocampo y su relación con el rendimiento en pruebas de aprendizaje y memoria a largo plazo; y estudiar una posible alteración de la CF entre el hipocampo y otras estructuras corticales y su relación con el rendimiento en tareas de aprendizaje/retención de la información en pacientes de EM. Con la técnica de Resonancia Magnética Funcional en estado de reposo se obtuvieron las diferentes imágenes estructurales y funcionales. Para el preprocesado se utilizó la técnica DARTEL y para el análisis estadístico la prueba t y la regresión lineal. Como resultados, observamos en los pacientes de EM mayor atrofia en el hipocampo izquierdo y menor conectividad funcional con respecto al grupo control. Estos resultados correlacionan con las menores puntuaciones en las pruebas de memoria obtenidas por los pacientes, por lo que podemos concluir que sí existe relación entre las alteraciones estructurales y funcionales del hipocampo en pacientes de EM y el bajo rendimiento en tareas de memoria episódica y declarativa.

Palabras clave.

Atrofia. Conectividad Funcional. Esclerosis Múltiple. Estados de reposo. Hipocampo. Volumetría.

Summary.

One of the most notable changes in sclerosis multiple patients are the problems of long-term memory, verbal and visual, processes that are related with hippocampus. In this study were compared 78 sclerosis multiple patients (59 EM RR and 19 EM SP) with 19 healthy controls, all of them evaluated with Brief Repeatable Battery of neuropsychological tests (BBNR). The aims of this work are to study a possible reduction of hippocampal volume SG and their relation with tests of learning and long-term memory; and study a possible alteration of the Functional Connectivity between the hippocampus and other cortical structures and their relation to the long-term performance in MS patients in learning and memory tasks. For the acquisition of neuroimaging was used resting-state Functional Magnetic Resonance, and for the preprocessing of the images was used morphometry advanced technique DARTEL. Regarding statistical analysis, t test and linear regression was used. We observed in MS patients greater atrophy in the left hippocampus and less functional connectivity with the control group. These results correlated with the lower scores on memory test, in consequence we can conclude that there are relation between structural and functional hippocampal changes in EM patients and the low performance in task episodic and declarative memory.

Keywords.

Atrophy. Functional Connectivity. Hippocampus. Volumetry. Multiple Sclerosis. Resting state.

Extended Summary.

MS is a progressive disease of the CNS and is characterised by the production of lesions that affect the myelin sheath. MS results in a broad range of symptoms, which include motor, sensitive, emotional and cognitive problems. Within cognitive deficits, several studies indicate that they have a high prevalence, affecting between 43-70% of patients. MS affects various aspects of cognitive functioning, including attention, information processing speed, executive functioning and long-term memory.

Memory is one of the most affected cognitive functions in MS patients, being processes of consolidation and storage of information altered compared to healthy subjects. These patients are young and they are personal, social and laboral growth. This being so, these changes produce a major impact on their quality of life. One of the structures that plays one of the most important roles in these processes of consolidation and storage of information is the hippocampus. This disease affects both, white matter and grey matter, but is grey matter atrophy the one that shows a closer relationship with low cognitive performance in MS patients.

Thus, this work has different objectives. First, it seeks to study a possible reduction of hippocampal volume SG and their relation with tests of learning and long-term memory; and study a possible alteration of the Functional Connectivity between the hippocampus and other cortical structures and their relation to the long-term performance in MS patients in learning and memory tasks.

For this purpose we recruited 78 patients diagnosed with MS treated at the Neurology Department of the general Hospital of Castellon, and 19 healthy controls. 59 of the patients had subtype MS RR, and 19 had subtype MS SP. All of them were assessed at a neurological level with scale *Expanded Disability Status Scale (EDSS)*. They were also evaluated with the Brief Repeatable Battery of neuropsychological tests (BBN-R), consisting of tests that evaluate cognitive areas most affected in MS: Symbol Digit Modalities Test (SMDT), which evaluates sustained attention and speed of information processing; Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT), which assesses the speed of information processing and working memory; Selective Reminding Test (SRT) that evaluates verbal learning and long-term memory; 10/36 Spatial Recall Test (spart), which assesses visuospatial learning and long-term memory; and finally the Word List Generation Test (WLGT), which evaluates the phonetic verbal fluency. We obtain Z verbal, visual, attentional, executive and global scores, with special interest on the first and the second one. In addition to using this battery, we evaluated the Intelligence Quotient (IQ)

premorbid, using the subtest of the WAIS-III matrix and obtaining information about manipulative IQ; and the *Fatigue Severity Scale (FSS)*.

For the acquisition of neuroimaging was used resting-state Functional Magnetic Resonance, and for the preprocessing of the images, among other tools, was used morphometry advanced technique DARTEL. Regarding statistical analysis, t test was used to observe the differences between patients and controls and linear regression analysis was used to observe the possible relationship between test scores for visual and verbal memory (Z_v and Z_{vi}) with hippocampal atrophy, as well as functional connectivity changes. For volumetric analysis was used Small Volume (SVC) for multiple comparisons at the cluster level with $p < 0.001$, covariated by age and gender. For the functional connectivity analysis, was used $p < 0.001$ corrected at the cluster level using Monte Carlo simulation.

Thus, as conclusions of this work, we can highlight the following: We have observed that patients have a neuropsychological profile characterized by changes in processing speed, attention, working memory and verbal and visual learning. We found that MS patients have atrophy in left hippocampus compared with the control group, and with respect to the execution in memory test, we observed a correlation between GM volume of both, hippocampus and performance of verbal Z. These results suggest that memory performance in MS patients is associated with learning processes and MS patients with higher GM volume perform better verbal memory task, while those with a lower GM in the hippocampus the worst performance in these memory test.

Concerning the functional connectivity, we observed that MS patients show a decrease in the functional connectivity between left hippocampus (where the focus of atrophy is located) and areas as the brainstem or cerebellum bilaterally, fusiform gyrus and left superior temporal gyrus. Thus there is a significant correlation between functional connectivity and left hippocampus and areas related with declarative/episodic memory processes with right temporal lobe (like superior and middle temporal gyrus, fusiform gyrus and inferior temporal gyrus) and performance in visual memory tasks. Finally, we can conclude that this study shows that in MS patients there is a relationship between low performance in episodic/declarative memory task and structural and functional changes observed at the level of hippocampus.

Este trabajo se ha realizado con los datos empíricos ya obtenidos del grupo de neuropsicología y neuroimagen funcional al que pertenece la tutora de este trabajo Dra. Cristina Forn. La alumna Beatriz Martínez Bronchal se ha implicado en el análisis parcial de los datos y la redacción del trabajo.

1. INTRODUCCIÓN.

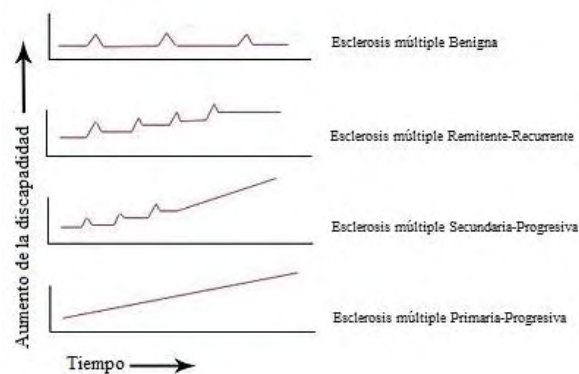
La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune, inflamatoria, crónica y degenerativa del Sistema Nervioso Central (SNC), caracterizada por la aparición de lesiones o placas en el cerebro y en la médula espinal (Chiaravalloti y DeLuca, 2008). Estas lesiones dañan la sustancia que recubre los axones, la vaina de mielina, produciendo una desmielinización y como consecuencia un enlentecimiento en la conducción del impulso nervioso, entre otras cosas (Sicotte y cols., 2008; Roosendaal y cols., 2010).

Se trata de una enfermedad muy común, cuya aparición ocurre en la edad adulta (generalmente entre los 20 y 40 años), siendo más común en mujeres y estimándose un inicio de la enfermedad 5 años antes que en los hombres (Bobholz y Gremley, 2011). Es una enfermedad que se produce predominantemente en la población caucásica y cuya prevalencia en nuestro país oscila entre 50-60 casos por cada 100.000 habitantes (Rosati, 2001; Fernández, 1990). Se desconoce por el momento el origen de la EM, aunque muchos estudios indican una etiología compleja y han encontrado una interacción entre factores ambientales, inmunológicos y genéticos. Se estima que los familiares de primer orden de pacientes con EM tienen entre un 2 - 5% de riesgo para desarrollar la enfermedad, en comparación con el 0.1% de la población general (Bobholz y Gremley, 2011).

El curso de la enfermedad no se puede pronosticar, ya que al igual que en las manifestaciones clínicas, hay mucha variabilidad tanto en la forma de aparición como de evolución, encontrándose pacientes apenas afectados por la enfermedad y pacientes en los que avanza de forma muy rápida. La enfermedad se inicia con la aparición de síntomas (brote) durante un breve periodo de tiempo. Este primer brote es conocido como Síndrome Clínico Aislado (SCA), y se calcula que alrededor de un 30-70% de los pacientes acabarán desarrollando una EM. Tras este primer brote, hay una remisión espontánea de los síntomas, parcial o total, pero puede volver a aparecer otro brote, y en ese caso se establece el diagnóstico de EM. Así, el curso evolutivo caracterizado por la aparición de brotes de carácter impredecible y acompañados por la recuperación parcial o total de los síntomas es denominado Remitente-Recurrente (RR). Es la forma más común de la enfermedad, afectando al 80% de los pacientes (Compston y Coles, 2008).

El curso evolutivo de la esclerosis múltiple Secundaria-Progresiva (SP) puede ir a continuación de la fase de Remitente-Recurrente, cuando los síntomas comienzan a empeorar. Es considerada la forma más avanzada y grave de la enfermedad, y pueden llegar a desarrollarla un 65% de los pacientes. Está caracterizada por la progresión continua, con o sin brotes, experimentando un aumento de la incapacidad en los casos con brotes. Otra forma clínica de EM, denominada Primaria-Progresiva (PP) está caracterizada por una progresión estable, con un empeoramiento lento y gradual de los síntomas y aumentando la discapacidad de forma progresiva. Aquí no hay periodos de recaída ni de brotes, pero sí ocasionalmente alguna leve mejoría. La padecen entre el 10-15% de los pacientes (Compston y Coles, 2008). Y finalmente, la EM benigna está caracterizada por una recaída inicial, y una posterior recuperación completa. Hay brotes y remisiones, pero la progresión de la enfermedad es muy ligera, teniendo una sintomatología menos grave, menos discapacidad y un mejor pronóstico. En esta forma de la enfermedad pueden transcurrir años hasta la presentación de una segunda recaída. **Ver Figura 1.**

Figura 1. Se representan las formas clínicas de la EM explicadas anteriormente. Están ordenadas por gravedad, siendo la PP la más grave y la Benigna la menos grave.



Las distintas alteraciones presentes tienen un gran impacto sobre la calidad de vida de los pacientes, influyendo negativamente sobre aspectos de la vida personal, social y profesional (Chiaravalloti y DeLuca, 2008). La EM está caracterizada a nivel clínico por la presencia de una gran variedad de síntomas, incluyendo: entumecimiento, temblor, fatiga, debilidad, dificultad de la marcha, disartria, parálisis, disfunción de la vejiga e intestino y déficits cognitivos, sensitivos y emocionales (Thompson, 2001; Uccelli y cols., 2004; Krupp y cols., 1998; Santiago y cols., 2006).

La depresión y los síntomas de fatiga son muy comunes en la EM, y ambos interfieren en las tareas cognitivas y no cognitivas de los pacientes. Aunque la relación entre la depresión y

el rendimiento cognitivo no está clara, diversos estudios han mostrado que los pacientes deprimidos tienen un rendimiento cognitivo inferior, (Arnett, 2005; Landro y cols., 2004) al igual que muchos estudios no han encontrado dicha relación. (DeLuca y cols., 1994; Fischer, 1988; Good y cols., 1992). La fatiga se encuentra en el 90% de los pacientes (Schapiro, 2002), y aunque no se ha establecido relación entre ésta y la disfunción cognitiva, sí que hay estudios que sugieren que podría afectar al rendimiento en tareas de memoria de trabajo y vigilancia (DeLuca, 2005; Krupp y cols., 2000).

Dentro de los déficits cognitivos, diversos estudios indican que tienen una prevalencia elevada, afectando entre 43 - 70% de la población clínica, y observándose éstos déficits desde etapas tempranas hasta más tardías de la enfermedad (Chiaravalloti y DeLuca, 2008; Sicotte y cols., 2008; Benedict y cols., 2006). El perfil de deterioro cognitivo de la EM incluye déficits en:

- Velocidad del procesamiento de la información: Además de definirse por la velocidad de respuesta a un estímulo, también se puede definir como el tiempo que se necesita para realizar una tarea, para tomar una decisión o para comprender una orden (Forn y Arnett, 2007; Santiago y cols., 2006; Chiaravalloti y DeLuca, 2008). Se trata de una alteración muy importante para entender el perfil de deterioro cognitivo, ya que diversos estudios han observado una relación entre el enlentecimiento de la velocidad del procesamiento y otras alteraciones cognitivas características, como la memoria de trabajo, la atención y las funciones ejecutivas (DeLuca y cols., 1998; Chiaravalloti, y cols., 2003; DeLuca y cols., 2004).

- Funciones atencionales: La atención no es una función unitaria, sino que está formada por distintos procesos: atención selectiva (capacidad para elegir la información importante y separar la irrelevante); atención sostenida (capacidad de mantener la atención durante un periodo de tiempo); atención dividida (capacidad de realizar dos o más tareas al mismo tiempo) y atención alternante (capacidad de cambiar el foco atencional de una tarea a otra). Distintos estudios han descrito mayores alteraciones en la atención dividida y alternante en pacientes de EM, y han destacado la relación entre la atención y la velocidad del procesamiento de la información. (Janculjak y cols., 2002; Forn y Arnett, 2007; Amato y cols., 2008; Bobholz y Rao, 2003).

- Funciones ejecutivas: Las funciones ejecutivas incluyen procesos cognitivos de planificación, motivación, razonamiento abstracto y conceptual, flexibilidad en el pensamiento, inicio, mantenimiento o inhibición de conducta y organización. Son las habilidades cognitivas necesarias para dirigir la conducta hacia objetivos y para adaptarse a los cambios o demandas ambientales. Hay pocos estudios, pero han mostrado una menor frecuencia de estas alteraciones en comparación con atención, memoria y velocidad del procesamiento (Beatty y Monson, 1996; Chiaravalloti y DeLuca, 2008).

- Funciones de memoria: Una de las alteraciones más destacadas (Chiaravalloti y DeLuca, 2008; Santiago y cols., 2006; Rao, 2004) son los problemas de aprendizaje y memoria a largo plazo tanto verbal como visual, afectando al 40 - 65% de los pacientes (Benedict y cols., 2006). La capacidad de aprendizaje y memoria a largo plazo se refiere a aquella capacidad de adquirir y consolidar información nueva para más tarde poder recuperarla (Lezak y cols., 2004). Estudios recientes sobre el deterioro de la memoria a largo plazo en EM muestran que el problema se encuentra en el aprendizaje inicial de la información, (Longoni y cols., 2015; Rao y cols., 1989) en contraposición con hipótesis precedentes que afirmaban que el problema se encontraba en la recuperación de la información del almacén de memoria (Thornton y cols., 2002; DeLuca y cols., 1998).

Esta enfermedad era considerada una enfermedad de la Sustancia Blanca (SB), pero gracias a las técnicas de neuroimagen se ha podido observar que además de la SB, también está alterada la Sustancia Gris (SG). Así, es la atrofia en la SG la que mayor relación ha demostrado con el bajo rendimiento cognitivo en los pacientes de EM (Filippi y cols., 2010). La técnica de neuroimagen utilizada en este trabajo ha sido la Resonancia Magnética Funcional en estado de reposo (resting - state) y las instrucciones que se dan para esta técnica a los pacientes es que permanezcan lo más quietos posible, intentando no pensar y con los ojos cerrados. A nivel anatómico los procesos de aprendizaje y memoria a largo plazo se relacionan con estructuras diencefálicas y, de forma concreta, con el hipocampo (Orozco-Giménez y cols., 2005). Siendo así, se ha seleccionado el hipocampo como Región de Interés (ROI) para este trabajo.

Diversos son los trabajos que han estudiado la reducción del volumen en SG en el hipocampo en pacientes de EM y su relación con los procesos de aprendizaje/memoria a largo plazo con resultados poco concluyentes. En uno de los primeros estudios desarrollados por Sicotte y cols., (2008) se midió el volumen del hipocampo de forma global y segmentada en pacientes con EM remitente-recurrente (RR) y secundaria-progresiva (SP). Ambos grupos de pacientes presentaron disminución de SG en hipocampo comparado con sujetos control, siendo esta disminución más evidente en la zona CA1 del hipocampo en ambos subgrupos de pacientes. Finalmente estos autores también describieron una correlación entre esta pérdida de volumen y un bajo rendimiento en una prueba de aprendizaje verbal.

Posteriormente en otro trabajo desarrollado por Anderson y cols., (2010) también se describe una reducción de SG en pacientes EM RR y primaria progresiva (PP) respecto al grupo control. En este caso los autores observan una correlación (aunque no significativa) entre la atrofia observada en el grupo de pacientes PP y el rendimiento en pruebas de memoria. En uno de los estudios de volumetría del hipocampo más recientes, Longoni y cols., (2015) reclutan a un amplio número de pacientes EM con subtipos RR, SP PP y EM benigna y los valoran con una amplia batería neuropsicológica en la que se incluyen pruebas de memoria verbal y

visuoespacial. Los autores describen reducción del hipocampo en pacientes de EM respecto al grupo control, con especial susceptibilidad en la zona CA1. También se observa una correlación significativa entre el rendimiento en pruebas de memoria tanto verbal como visuoespacial y reducción de la SG en CA1.

Otro trabajo más novedoso ha estudiado no sólo la atrofia del hipocampo, sino también los patrones de conectividad funcional durante estados de reposo entre el hipocampo y otras regiones anatómicas en pacientes de EM. En este estudio, Roosendaal y cols., (2010) compararon el volumen del hipocampo y la conectividad funcional en pacientes de EM (RR, SP y síndrome clínico aislado) sin déficits de memoria visuoespacial. Los resultados mostraron que los pacientes de EM en global presentaban atrofia en el hipocampo derecho respecto a los sujetos sanos.

En cuanto a los resultados de conectividad funcional, los pacientes también mostraron una reducción de la conectividad funcional respecto al grupo control en relación a la disminución de la SG en el volumen del hipocampo, es decir, aquellos pacientes con más atrofia (1 desviación típica por debajo al grupo control) presentaban una menor conectividad funcional que aquellos pacientes que no presentaban atrofia respecto al grupo control. En relación a estos resultados los autores concluyen que se observa un descenso de conectividad funcional en pacientes de EM antes de la aparición de la atrofia en SG y teniendo en cuenta la muestra de pacientes reclutada, antes de la aparición de los déficits de memoria.

Atendiendo a los antecedentes mencionados anteriormente, los objetivos del presente trabajo son: 1) estudiar una posible reducción del volumen de SG del hipocampo en un grupo de pacientes de EM en comparación con el grupo control y su relación con el rendimiento en pruebas de aprendizaje/retención de la información; 2) estudiar una posible alteración de la CF entre el hipocampo y otras estructuras corticales observada en pacientes de EM en comparación con el grupo control y su relación con el rendimiento en tareas de aprendizaje/retención de la información.

2. METODOLOGÍA.

2.1. Participantes.

Para el siguiente estudio se reclutaron a 78 pacientes diagnosticados de EM tratados en el Servicio de Neurología del Hospital General de Castellón, siguiendo los criterios diagnósticos de McDonald y cols., (2001) y 19 controles sanos. 59 de los pacientes presentaban el subtipo de EM RR y 19 el subtipo de EM SP. Fueron excluidos aquellos pacientes que presentaban un brote o recaída en el momento de la exploración o durante los dos últimos meses y que

estuvieran en tratamiento de esteroides, o aquellos que presentaran otra enfermedad neurológica además del diagnóstico de EM. Todos los pacientes fueron valorados a nivel neurológico con la escala *Expanded Disability Status Scale (EDSS)* (Kurtzke, 1983). Los pacientes fueron comparados con un grupo de 19 sujetos sanos, sin alteración neurológica o psiquiátrica .

2.2. Valoración neuropsicológica.

Todos los participantes fueron valorados con la batería neuropsicológica breve Brief Repeatable Battery of neuropsychological tests (BBN-R), y consta de los siguientes subtests: Symbol Digit Modalities Test (SMDT), que valora la atención sostenida y la velocidad del procesamiento de la información; Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT), que evalúa la velocidad del procesamiento de la información y la memoria de trabajo; Selective Reminding Test (SRT) que evalúa el aprendizaje y la memoria verbal a largo plazo; 10/36 Spatial Recall Test (SPART), que valora el aprendizaje y la memoria visuoespacial a largo plazo; y finalmente el Word List Generation Test (WLGT), que evalúa la fluencia fonética verbal. A partir de los diferentes test, se obtienen las diferentes puntuaciones Z (global, atencional, ejecutiva, verbal y visual). En este trabajo nos hemos centrado en la puntuación de la Z de memoria verbal (Z_v), que se obtiene mediante el SRT, ($SRT-A + SRT-R + SRT-LP/3$) y en la puntuación de la Z de memoria visual (Z_{vi}), obtenida mediante el 10/36 SPART ($10/36 SPART-LP + 10/36 SPART/2$), ya que ambos forman parte de los objetivos de nuestro estudio.

Además de utilizar esta batería, valoramos el Cociente Intelectual (CI) premórbido, utilizando el subtest del WAIS-III de matrices y obteniendo información sobre el CI manipulativo, y también se utilizó la escala de Severidad de Fatiga del inglés *Fatigue Severity Scale (FSS; Krupp, LaRocca, Muir-Nash, Steinberg, 1989; Vilarrasa, Berrios, Larrinoa Palacios, 2000)*.

2.3. Adquisición de neuroimagen.

Mediante un escáner Siemens Avanto 1.5 T se adquirió para cada uno de los participantes una imagen morfométrica 3D sagital MPRAGE T1 (TR = 11ms; FOV 256mm×234mm; matriz = 256×224; voxel size 1mm×1mm×1mm; TE = 4,9 ms; n° ecos: 1; flip angle = 15°). De forma adicional, se adquirieron 270 volúmenes para el análisis de Resonancia Magnética funcional (RMf) en estado de reposo gradient-echo T2*-weighted echo planar imaging sequence (TR/ TE) = 2000/30 ms, matriz = 64 × 64 × 30, voxel size = 3.5 × 3.5 × 4.02 mm, flip angle = 90°. Para la adquisición de la secuencia en estado de reposo se instruyó a todos

los participantes a permanecer inmóviles y mantener los ojos cerrados sin dormirse ni pensar en nada en particular.

2.4. Preprocesado de las Imágenes Estructurales.

En primer lugar, se realizó una segmentación semi-automática de las lesiones de los pacientes en las imágenes 3d sagitales MPRAGE T1 mediante el programa *Jim* (Versión 5.0, Xinapse Systems, Northants, UK; <http://www.xinapse.com>). Después, se creó una máscara binaria de cada paciente con la función *ImCalc* del SPM8. Con la herramienta *Lesion Filling* incluida en el *FMRIB Software Library* (FSL; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>; (Gelineau y cols., 2012), se combinaron estas máscaras binarias con las imágenes 3d originales para generar nuevas imágenes 3d con las áreas lesionadas “rellenadas” con intensidades de los vóxeles de sustancia blanca adyacentes. Este paso se realizó para obtener una mejor segmentación del análisis posterior de VBM. A continuación, las imágenes 3D “rellenadas” fueron reorientadas a la comisura anterior-posterior. Después fueron preprocesadas con la herramienta VBM8 (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm/>) del programa *Statistical Parametrical Mapping* (SPM v.8 <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>). En base al protocolo establecido se siguieron los pasos que a continuación se detallan:

- 1) segmentación de las imágenes en SG, SB y líquido cefalorraquídeo;
- 2) registro de imágenes a un template estándar proporcionado por la *International Consortium of Brain Mapping (ICBM)*;
- 3) normalización mediante *DARTEL* creando un template personalizado para la muestra de 85 participantes;
- 4) modulación por componentes no-lineales derivados de la normalización espacial;
- 5) suavizado con kernel Gaussiano FWHM de 8mm.

2.5. Preprocesado de las Imágenes Funcionales.

Las imágenes funcionales fueron preprocesadas mediante la herramienta *Data Processing Assistant for Resting-State fMRI Advanced (DPARSFA)*; (<http://www.restfmri.net>), siguiendo los siguientes pasos:

- 1) Realineamiento temporal o *Slice-timing correction*.
- 2) Corrección del movimiento de cabeza.
- 3) Normalización espacial.
- 4) Suavizado espacial de FWHM de 4 mm.

5) Extracción de la tendencia lineal de la serie temporal.

6) Filtrado de paso banda (0.01–0.08 Hz) para reducir los efectos de baja frecuencia y el ruido de alta frecuencia.

7) Control del ruido no neural en las series temporales de las regiones semilla.

Asimismo, varias fuentes de varianza de error fueron eliminadas de los datos a través de una regresión lineal: seis parámetros obtenidos por el movimiento de cuerpo rígido de cabeza, la señal media global, la señal de sustancia blanca y la señal de líquido cefalorraquídeo.

Después del preprocesado, seleccionamos como regiones de interés ambos hipocampos, creando las regiones previamente con el software *wfu_Pickatlas* para usarlas posteriormente como semillas en los análisis posteriores. Estas semillas fueron transformadas al mismo espacio normalizado que los scans funcionales. Después, calculamos los mapas de CF vóxel a vóxel para obtener las redes funcionales evocadas por cada hipocampo. Este método permite estudiar la CF en estado de reposo (mediante la correlación de *Pearson*) de una región semilla con todos los otros vóxeles del cerebro en cada uno de los participantes. Los mapas individuales de correlación r se normalizaron a mapas z con la transformación Z de *Fisher* y después se obtuvieron los mapas de conectividad para cada grupo (sujetos control y pacientes).

2.6. Análisis Estadístico de segundo nivel.

Atendiendo a los objetivos del estudio se realizaron los siguientes análisis estadísticos de segundo nivel:

1) Prueba t para observar las diferencias entre los 2 grupos de participantes (pacientes y controles) tanto en las variables conductuales como en la localización de la atrofia hipocampal y las diferencias de CF;

2) Análisis de regresión lineal para observar una posible relación entre las puntuaciones Z_v y Z_{vi} con la atrofia hipocampal así como con las alteraciones de CF.

Para el análisis de las diferencias estructurales se utilizó una máscara de la región de interés (hipocampos) y una corrección *Small Volume Correction (SVC)* para comparaciones múltiples a nivel de clúster con una $p < 0.001$ covariando por edad y género. Para los análisis de CF, se utilizó una $p < 0.001$ corregida a nivel de clúster mediante simulación de Monte Carlo, utilizando la herramienta *Alphasim* incluida en el software *REST* (<http://www.restfmri.net/>), y covariando de nuevo todos los análisis por edad y género. El etiquetado de las localizaciones neuroanatómicas correspondientes a las áreas estadísticamente significativas se llevó a cabo con la extensión *xjview* (<http://www.alivelearn.net/xjview8/>).

3. RESULTADOS.

3.1. Resultados neuropsicológicos.

Los resultados neuropsicológicos realizados tanto al grupo de pacientes como al de controles se presentan en la tabla 1. El grupo de pacientes, que se caracteriza por tener una mayor media de edad, mayor fatiga, menos años de escolarización y un menor BPF (brain parenchymal fraction) que el grupo control, presentan también menor rendimiento neuropsicológico en todas las pruebas cognitivas respecto al grupo control. Centrándonos en los resultados obtenidos en las pruebas de memoria verbal y visual, observamos unas puntuaciones significativamente inferiores en el grupo de los pacientes respecto al grupo de controles para ambas pruebas.

Tabla 1: Datos demográficos, clínicos y neuropsicológicos de los participantes.

	Controles (n=19)	Pacientes (n=78)	Valor p
Género	9 Mujeres / 10 Hombres	54 Mujeres / 24 Hombres	-
Años de evolución de la enfermedad [rango]	-	8.68 (7.35) [1-29]	-
Media de edad [rango]	31.63 (6.06) [22-44]	39.84 (8.97) [20-58]	0.00
Media años de escolaridad [rango]	13.89 (2.56) [8-16]	11.10 (2.91) [8-16]	0.00
EDSS media [rango]	-	2.70 (1.61) [0-7]	-
FSS media	32.74 (10.71)	37.48 (16.41)	0.24
BPF media	0.86 (0.01)	0.82 (0.03)	0.00
CI Manipulativo	112.11 (13.57)	100.26 (10.44)	0.00
SDMT media	58.21 (11.50)	46.10 (14.30)	0.00
PASAT-3 media	47.05 (9.95)	31.12 (22.51)	0.00
SRT-A media	51.47 (12.84)	40.64 (14.00)	0.00
SRT-R media	41.26 (11.09)	30.69 (14.07)	0.00
SRT-LP media	9.68 (1.77)	7.60 (2.66)	0.00
10/36 SPART media	22.47 (4.50)	18.95 (5.71)	0.00
10/36 SPART-LP media	8.05 (2.15)	6.58 (2.27)	0.01
Fluidez Fonética (F)	12.68 (3.99)	10.67 (4.40)	0.06
Fluidez Semántica (Animales)	22.53 (4.62)	19.71 (5.87)	0.03
WLGT media	22.53 (4.62)	19.71 (5.87)	0.03
Hipocampo Izquierdo	5.26 (0.35)	4.80 (0.60)	0.00
Hipocampo Derecho	4.52 (0.36)	4.44 (0.53)	0.46

Lista de abreviaturas: EDSS: *Expanded Disability Status Scale*; FSS: *Fatigue Severity Scale*; BPF: brain parenchymal fraction; CI: Cociente Intelectual; SMDT: Symbol digit modalities test; PASAT: Paced Auditory Serial Addition Test; SRT: Selective reminding test; SPART: Spatial Recall test; WLGT: word list generation test.

3.2. Resultados volumétricos.

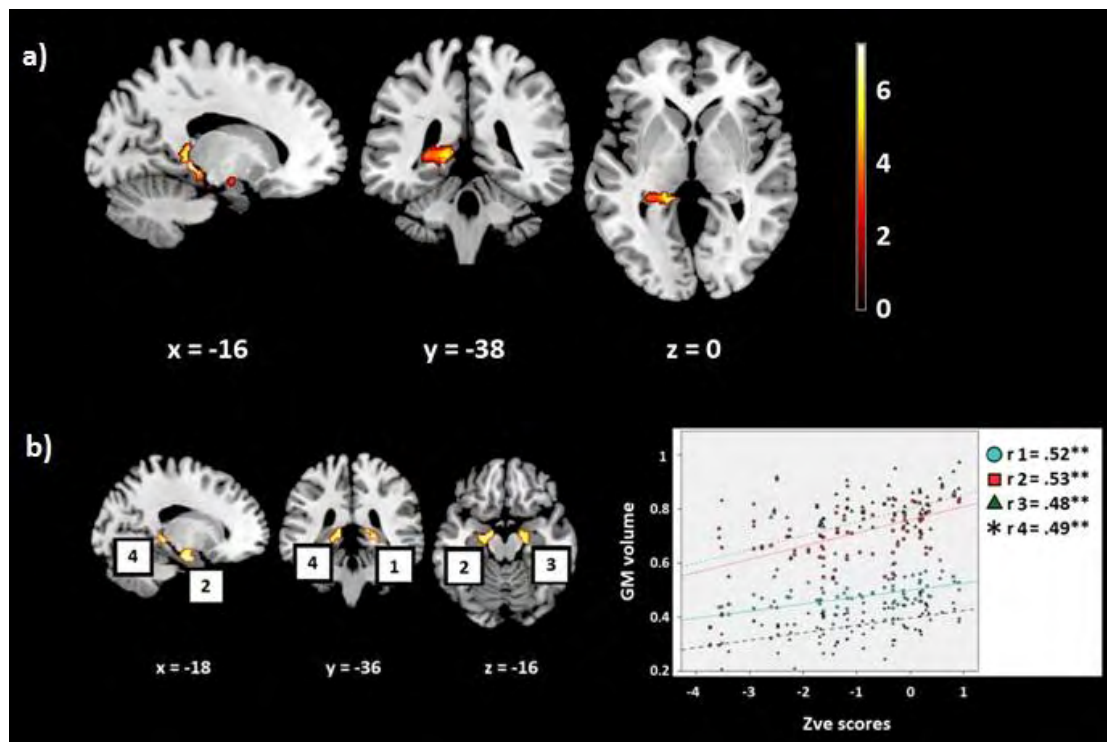
En relación a los resultados de volumetría obtenidos, los pacientes de EM presentan una mayor atrofia en el hipocampo izquierdo respecto al grupo control. Además, se observa una correlación positiva en el grupo de pacientes entre la z verbal y la atrofia en el hipocampo, tanto izquierdo como derecho. Para una descripción más específica de los resultados ver Tabla 2 y Figura 2.

Tabla 2. Muestra las áreas con diferencias significativas en el volumen de la Sustancia Gris entre el grupo de pacientes y el grupo control.

Atrofia pacientes vs. controles					
Área anatómica	cluster	valor t	Coordenadas MNI (x, y, z)		
			x {mm}	y {mm}	z {mm}
Hipocampo izquierdo	348	7,17	-15	-33	-4,5
		6,98	-15	-34,5	7,5
		4,59	-25,5	-36	6
Hipocampo izquierdo	65	3,74	-12	-7,5	-19,5
Correlación pacientes con Z verbal					
Área anatómica	cluster	valor t	Coordenadas MNI (x, y, z)		
			x {mm}	y {mm}	z {mm}
Hipocampo derecho	204	4,38	22,5	-34,5	-3
		3,76	13,5	-36	6
	206	4,02	16,5	-10,5	-18
Hipocampo izquierdo	441	4,25	-19,5	-7,5	-19,5
	126	3,91	-12	-37,5	4,5
		3,80	-18	-34,5	0

Lista de abreviaturas: MNI= Montreal Neurological Institute.

Figura 2. a) Atrofia del hipocampo izquierdo en el grupo de pacientes. Diferencias en volumetría en pacientes y controles. b) Correlación en el grupo de pacientes entre la z verbal y la atrofia en la Sustancia Gris del hipocampo. Para el análisis de las diferencias estructurales del hipocampo se utilizó una corrección Small Volume (SVC) para comparaciones múltiples a nivel de clúster con una $p < 0.001$, covariando por edad y género.



3.3. Resultados conectividad funcional.

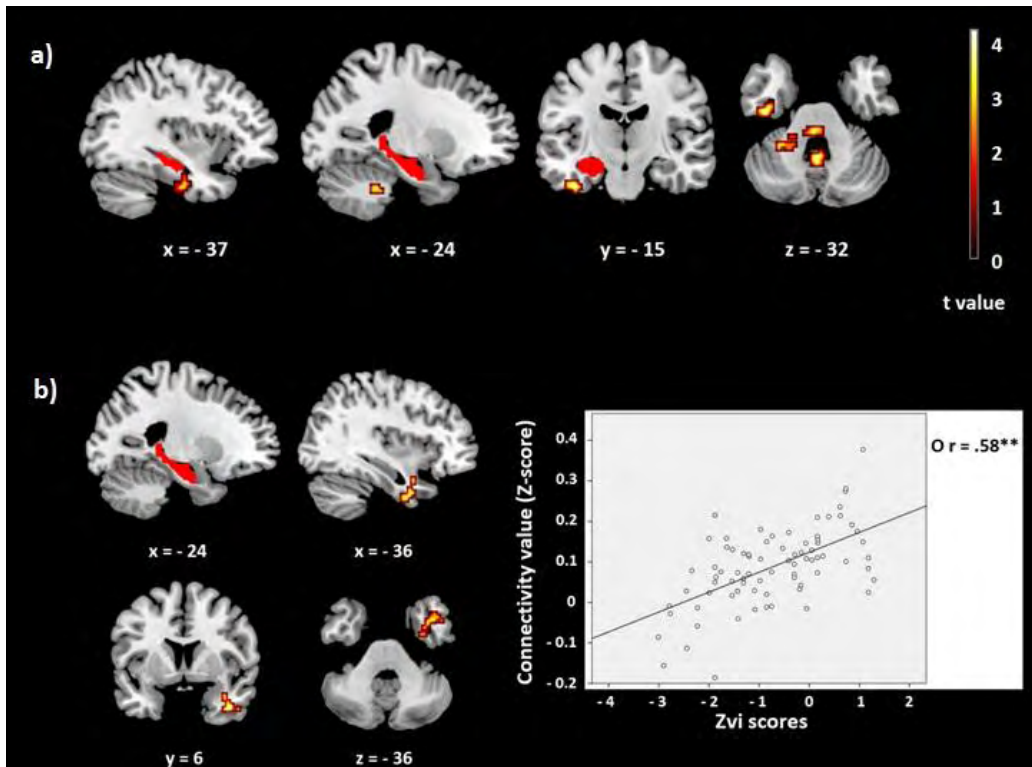
En los resultados de conectividad hemos observado que en comparación con el grupo control, el grupo de pacientes muestra una disminución de la conectividad funcional con aquellas regiones conectadas funcionalmente con el hipocampo izquierdo, como son el troncoencéfalo bilateral, el cerebelo bilateral, el giro fusiforme izquierdo o el giro temporal inferior izquierdo. Además, se observa una correlación positiva entre la z de memoria visual y la conectividad funcional, entre el hipocampo izquierdo y regiones como el giro temporal superior derecho, el giro temporal medio derecho, el giro fusiforme derecho y el giro temporal inferior derecho. Dichos resultados se pueden encontrar en la Tabla 3 y en la Figura 3.

Tabla 3. Muestra las áreas con diferencias significativas en CF en el grupo de pacientes y la correlación de la CF con las puntuaciones en la Z de memoria visual.

Localización Anatómica	Disminución de CF en pacientes					Correlación CF - Z memoria visual				
	Tamaño de cluster	Valor t	Coordenadas MNI			Tamaño de cluster	Valor r	Coordenadas MNI		
Troncoencéfalo izquierdo	45	4.32	0	-	-	-	-	-	-	-
Troncoencéfalo derecho		4.39	9	-	-					
Cerebelo derecho	23	4.26	0	-	-	-	-	-	-	-
Giro temporal inferior izquierdo (BA 20)	22	4.25	-	-	-	-	-	-	-	-
Giro fusiforme izquierdo		3.49	-	-	-					
Cerebelo izquierdo	22	3.91	-	-	-	-	-	-	-	-
Giro temporal superior derecho	-	-	-	-	-	31	0.58	36	6	-24
Giro temporal medio derecho (BA 21)	-	-	-	-	-			39	6	-36
Giro fusiforme derecho	-	-	-	-	-			33	0	-33
Giro temporal inferior derecho	-	-	-	-	-			36	12	-42

Lista de abreviaturas: CF: Conectividad Funcional; MNI= Montreal Neurological Institute.

Figura 3. a) Resultados de las diferencias de conectividad entre el grupo de los pacientes y el grupo de los controles. b) Correlación entre la Z visual y la conectividad funcional observada en el grupo de pacientes. El grupo de pacientes muestra una disminución en la conectividad entre el hipocampo izquierdo y otras zonas como el troncoencéfalo o cerebelo a nivel bilateral, giro fusiforme y giro temporal superior izquierdos. En las imágenes se utilizó una $p < 0.001$ corregida a nivel de clúster mediante simulación de Monte Carlo, utilizando el software Alphasim de AFNI, y covariando los análisis por edad y género.



4. DISCUSIÓN.

En el presente trabajo hemos observado que en los pacientes de EM existe una relación entre la disminución de SG (atrofia) en el hipocampo, como esta atrofia disminuye la conectividad funcional de esta zona con otras regiones corticales, y finalmente como estas dos variables influyen en el rendimiento de los test de memoria.

Como se ha introducido con anterioridad, la memoria es una de las funciones cognitivas más alteradas en los pacientes de EM, estando los procesos de consolidación y almacenamiento de la información alterados respecto a los sujetos sanos (Benedict y cols., 2006; Rao y cols., 1991; Longoni y cols., 2015). Una de las estructuras que desempeña un papel más importante en estos procesos de consolidación y almacenamiento de la información es el hipocampo. En este trabajo y utilizando la técnica de morfometría avanzada DARTEL, hemos observado en los pacientes de EM atrofia en el hipocampo izquierdo respecto al grupo control. Estos resultados volumétricos son similares a los descritos con otras técnicas morfométricas en las que se observa atrofia en el hipocampo de pacientes de EM respecto a sujetos sanos (Sicotte y cols., 2008; Longoni y cols., 2015; Anderson y cols., 2010; Roosendaal y cols., 2010; Pardini y cols., 2014). Respecto a la relación entre pérdida de volumen y ejecución en las pruebas de memoria en pacientes de EM, encontramos una correlación entre el volumen en SG de ambos hipocampos (tanto derecho como izquierdo) y el rendimiento en la Z de memoria verbal

(compuesta por el aprendizaje de una lista de palabras y la memoria a largo plazo de esa lista de palabras).

Estos resultados denotan que el rendimiento de memoria en pacientes de EM está relacionado a nivel funcional con los procesos de aprendizaje y que aquellos pacientes con EM y mayor volumen de SG en hipocampo rendirán mejor en pruebas de memoria verbal, mientras que aquellos con un menor volumen de SG en hipocampo presentaran un menor rendimiento en estas pruebas de memoria. La relación entre cambios estructurales en hipocampo y rendimiento en pruebas de memoria en pacientes de EM es hasta el momento contradictoria. Así pues, los trabajos desarrollados por Anderson y cols., (2010) o Roosendaal y cols., (2010) no encontraron correlaciones significativas entre disminución de SG y rendimiento en pruebas de memoria, mientras Sicotte y cols., (2008) en un trabajo pionero al respecto sí que describió una correlación significativa entre pérdida de volumen en zonas a nivel bilateral como CA1 y el subículum y bajo rendimiento en tareas de memoria verbal. Por otra en el reciente trabajo publicado por Longoni y cols., (2015) los autores también describen una correlación significativa entre pérdida de volumen en la parte CA1 del hipocampo izquierdo y derecho en pacientes de EM y relación entre rendimiento en tareas tanto de memoria verbal como visuoespacial.

En este trabajo también se observa la relación entre atrofia en hipocampo y descenso de conectividad funcional. En este sentido los pacientes de EM muestran una disminución de la conectividad funcional entre el hipocampo izquierdo (donde se localiza el foco de atrofia) y zonas como el troncoencéfalo o cerebelo a nivel bilateral, giro fusiforme y giro temporal superior izquierdos, estas dos últimas estructuras mayormente relacionadas con el hipocampo y con procesos de memoria declarativa (Suzuki, 2003; Mitchell y Johnson, 2009). Es difícil comparar estos resultados con estudios anteriores. Como se ha introducido anteriormente, sólo el estudio desarrollado por Roosendaal y cols., (2015) ha relacionado la atrofia en hipocampo con descenso de conectividad funcional en paciente de EM. Este autor muestra un descenso de conectividad funcional en aquellos pacientes de EM con un grado de atrofia mayor en comparación con los controles en un gran número de áreas cerebrales en comparación con sujetos control, mientras que aquellos pacientes de EM sin atrofia sólo presentaban un disminución de conectividad funcional entre hipocampo izquierdo y derecho.

Así pues, aunque los resultados no son comparables, sí que podemos afirmar que en ambos estudios una disminución de atrofia de SG en hipocampo implica una disminución de conectividad funcional entre esta estructura y otras estructuras cerebrales. Finalmente, y a favor de la hipótesis de que la conectividad funcional en el hipocampo está relacionada con el rendimiento en pruebas de memoria, en este trabajo hemos observamos una correlación significativa entre conectividad funcional entre hipocampo izquierdo y regiones relacionadas

con los procesos de memoria declarativa/episódica del lóbulo temporal derecho (como el giro temporal superior y medio giro fusiforme y giro temporal inferior) (Mitchell y Johnson, 2009) y rendimiento en tareas de memoria visual.

Finalmente debemos añadir que aunque los pacientes seleccionados para este estudio presentan un rendimiento inferior que los sujetos control en todas las funciones cognitivas, el perfil cognitivo de este grupo de pacientes se caracteriza fundamentalmente por presentar problemas en pruebas que miden velocidad del procesamiento y/o atención/ memoria de trabajo, es decir el 65,85% de la muestra rinde por debajo de dos desviaciones típicas en la tarea PASAT o SDMT, y más de la mitad de los pacientes (un 60,87% de la muestra) presenta un rendimiento alterado en una de las tareas que evalúa memoria tanto verbal como visual. Es decir, el grupo de pacientes de EM presenta un perfil neuropsicológico característico de los pacientes de EM en los que principalmente observamos alteración de la velocidad del procesamiento/atención y funciones de memoria como la memoria de trabajo o la capacidad de aprendizaje verbal o visual. Es por tanto pertinente concluir que el presente estudio muestra una clara relación entre bajos rendimientos en tareas de memoria episódica/declarativa en pacientes de EM y alteraciones estructurales y funcionales observadas a nivel de hipocampo, estructura anatómica relacionada con estos tipos de memoria.

5. REFERENCIAS.

- Amato, M. P., Zipoli, V. & Portaccio, E. (2008). Cognitive changes in multiple sclerosis. *Expert review of neurotherapeutics*, 8(10), 1585–1596.
- Anderson, V. M., Fisniku, L. K., Khaleeli, Z., Summers, M. M., Penny, S. A.,... Altmann, D. R. (2010). Hippocampal atrophy in relapsing-remitting and primary progressive MS: a comparative study. *Multiple sclerosis*, 16(9), 1083–90.
- Beatty, W.W., & Monson, N. (1996). Problem solving by patients with multiple sclerosis: Comparison of performance on the Wisconsin and California Card Sorting Tests. *Journal of International Neuropsychological Society*, 2, 134-40.
- Benedict, R.H., Cookfair, D., Gavett, R., Gunther, M., & Munschauer, F. (2006) Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS). *Journal of the International Neuropsychological Society*, 12, 549– 558.
- Bobholz, J. A., and Rao, S. M. (2003). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review of recent developments. *Current opinion in neurology*, 16(3), 283–288.

- Bobholz, J. A., & Gremley, S. (2011). Multiple Sclerosis and Other Demyelinating Disorders. En M. R. Schoenberg & J. G. Scott (Eds.), *The Little Black Book of Neuropsychology: A syndrome-based approach* (pp. 647–661). USA: Springer.
- Caine, E. D., Bamford, K. A., Schiffer, R. B., Shoulson, I. & Levy, S. A. (1986). A controlled neuropsychological comparison of Huntington's disease and multiple sclerosis. *Archives of Neurology*, 43, 249–54.
- Chiaravalloti, N. D., Christodoulou, C., Demaree, H. A., and DeLuca, J. (2003). Differentiating simple versus complex processing speed: influence on new learning and memory performance. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 25(4), 489–501.
- Chiaravalloti, N. D., & DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Lancet. Neurology*, 7(12), 1139–51.
- Compston, A., and Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet*, 372(9648), 1502–1517.
- DeLuca, J., Barbieri-Berger, S. & Johnson, S. K. (1994). The nature of memory impairments in multiple sclerosis: acquisition versus retrieval. *J Clin Exp Neuropsychol* 16, 183–89.
- DeLuca, J., Gaudino, E. A., Diamond, B. J., Christodoulou, C., and Engel, R. A. (1998). Acquisition and storage deficits in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology* 20(3), 376–390.
- DeLuca, J. (2005). Fatigue, cognition, and mental effort. En: J. DeLuca (Ed.), *Fatigue as a window to the brain* (pp. 37-57). USA: Cambridge.
- Dineen, R. A., Bradshaw, C. M., Constantinescu, C. S., & Auer, D. P. (2012). Extra-hippocampal subcortical limbic involvement predicts episodic recall performance in multiple sclerosis. *PloS one*, 7(10).
- Fernández de Larrinoa, P. P., Berrios, G., Bulbena, A. (2000). *Medición clínica en psiquiatría y psicología*. Barcelona: Masson.
- Fernández, O. (1990). Epidemiología de la esclerosis múltiple en España. En A. Alfaro & J. Sancho (Eds.) *Neuroepidemiología*. (pp. 115-22). Madrid: MCR.
- Filippi, M., Rocca, M. A., Benedict, R. H.,...DeLuca, J. (2010). The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 75(23), 2121-8.
- Fischer, J. S. (1988). Using the Wechsler memory scale-revised to detect and characterize memory deficits in multiple sclerosis. *Clin Neuropsychol* 2, 149–72.
- Forn, C. & Arnett, P., (2007) Evaluación neuropsicológica en la esclerosis múltiple. *Rev Neurol* 44, 166-72.

- Gelineau-Morel, R., Tomassini, V., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Matthews, P. M., & Palace, J. (2012). The effect of hypointense white matter lesions on automated gray matter segmentation in multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 33(12), 2802–2814.
- Good, K., Clark, C. M., Oger, J., Paty, D. & Klonoff, H. (1992). Cognitive impairment and depression in mild multiple sclerosis. *J Nerv Ment Dis* 180, 730–32.
- Janculjak, D., Mubrin, Z., Brinar, V., y Spilich, G. (2002). Changes of attention and memory in a group of patients with multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 104, 221-7.
- Krupp, L. B., LaRocca, N.G., Muir-Nash, J., & Steinberg, A. D. (1989) The fatigue severity scale. application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*, 46(10), 1121-3.
- Krupp, L.B., Álvarez, L.A., LaRocca, N.G., y Sheinberg, L.C. (1998). Fatigue in multiple sclerosis. *Archives of Neurology*, 45, 435-7.
- Krupp, L. B., Elkins, L. E. (2000). Fatigue and declines in cognitive functioning in multiple sclerosis. *Neurology* 55, 934–39.
- Kurtzke, J.F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology (Cleveland)*; 33, 1444-1452.
- Landro, N. I., Celius, E.G. & Sletvoid, H. (2004). Depressive symptoms account for deficient information processing speed but not for impaired working memory in early phase multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 217, 211–16.
- Lezak MD, Howieson DB, Loring DW. Neuropsychological assessment (4th edn). New York, USA: Oxford Univeristy Press, 2004.
- Longoni, G., Rocca, M. a, Pagani, E., Riccitelli, G. C.,... Falini, A. (2015). Deficits in memory and visuospatial learning correlate with regional hippocampal atrophy in MS. *Brain structure & function*, 220(1), 435–44.
- McDonald, W. I., Compston, D. A. S.,... Edan, G. (2001). Recommended diagnostic criteria for MS: Guidelines from the international panel on the diagnosis of MS. *Ann. Neurol* 50, 121-127.
- Mitchell, K. J. & Johnson, M. K. (2009) Source monitoring 15 years later: what have we learned from fMRI about the neural mechanisms of source memory? *Psychol Bull*, 135(4), 638-77.
- Orozco Giménez, C., Pastor Pons, E., Meersmans Sánchez-Jofré, M., Verdejo-García, A.,

- Pérez- García, M. (2005) Relación entre los test de memoria y reflexología del hipocampo. *Rev Neurol*, 40 (3), 129-134.
- Rao, S. M., Grafman, J., DiGuilio, D. (1993). Memory dysfunction in multiple sclerosis: its relation to working memory, semantic encoding and implicit learning. *Neuropsychology* 7, 183-189.
- Rao, S. M., Leo, G. J. & St. Aubin-Faubert, P. (1989). On the nature of memory disturbance in multiple sclerosis. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 11, 699–712.
- Rao, S. M. and the Cognitive Function Study Group, National Multiple Sclerosis Society (1990). *A manual for the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test in multiple sclerosis*. New York: National Multiple Sclerosis Society.
- Rao, S. M., Leo, G., Bernardin, L. & Unverzagt, F. (1991). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: frequency, patterns, and predictions. *Neurology*, 41, 685–91.
- Rao, S.M. (2004). Cognitive function in patients with multiple sclerosis: Impairment and treatment. *Int MS Care*, 1, 9-22.
- Roosendaal, S. D., Hulst, H. E., Vrenken, H., Feenstra, H. E., & Castelijns, J. A. (2010). Structural and Functional Hippocampal Changes in Multiple Sclerosis Patients with Intact Memory Function. *Radiology* 255(2), 595–604.
- Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: An update. *Journal of the Neurological Science*, 22(2), 117–139.
- Santiago, O., Guardia, R., y Arbizu, T. (2006). Neuropsicología de los pacientes con esclerosis múltiple remitente recurrente con discapacidad leve. *Psicothema*, 18(1), 84-87.
- Schapiro, R. (2002). The pathophysiology of MS-related fatigue: what is the role of wake promotion? *Int J MS Care*, 6–8.
- Sepulcre, J., Vanotti, S., Hernández, R., Sandoval, G., Cáceres, F. & Garcea, O. (2006) Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult Scler* 12, 187-95.
- Sicotte, N. L., Kern, K. C., Giesser, B. S., Arshanapalli, A., Schultz, A.,... Wang, H. (2008). Regional hippocampal atrophy in multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 131(4), 1134–41.
- Suzuki, W. A. (2003) Declarative versus episodic: two theories put to the test. *Neuron*, 38(1), 5-7.

- Thompson, A. (2001). Symptomatic management and rehabilitation in multiple sclerosis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 71, 22-27.
- Thornton, A. E., Raz, N., Tucke, K. A. (2002). Memory in multiple sclerosis: contextual encoding deficits. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8, 395–409.
- Uccelli, M.M., Mohr, L.M., Battaglia, M.A., Zagami, P., y Mohr, D.C. (2004). Peer support groups in multiple sclerosis: Current effectiveness and future directions. *Multiple Sclerosis*, 10, 80-4.
- Pardini, M., Sethi, V., Muhlert, N., Palesi, F., Miller, D., & Chard, D. (2014) Network efficiency and cognitive deficits in MS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 8(10).

