



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR

DE INGENIEROS DE TELECOMUNICACIÓN

TRABAJO FIN DE MÁSTER

MÁSTER EN INGENIERÍA DE TELECOMUNICACIÓN

**Análisis multimodal para la caracterización
exhaustiva de la huella fisiopatológica de la
enfermedad de Alzheimer**

Autor:

D. Víctor Gutiérrez de Pablo

Tutor/es:

Dr. D. Carlos Gómez Peña

Dr. D. Jesús Poza Crespo

Valladolid, 2021

TÍTULO: **Análisis multimodal para la caracterización exhaustiva de la huella fisiopatológica de la enfermedad de Alzheimer**

AUTOR: **D. Víctor Gutiérrez de Pablo**

TUTOR/ES: **Dr. D. Carlos Gómez Peña**
Dr. D. Jesús Poza Crespo

DEPARTAMENTO: **Teoría de la Señal y las Comunicaciones e Ingeniería Telemática**

Tribunal

PRESIDENTE: **Dr. D. Roberto Hornero Sánchez**

SECRETARIA: **Dra. D^a. María García Gadañón**

VOCAL: **Dra. D^a. Miriam Antón Rodríguez**

P. SUPLENTE: **Dr. D. Miguel López-Coronado**

S. SUPLENTE: **Dr. D. Javier Aguiar Pérez**

V. SUPLENTE: **Dr. D. David González Ortega**

FECHA: **2021**

CALIFICACIÓN:

*A mi hermana,
que a partir de ahora todo sean buenas nuevas ...*

Agradecimientos

Para comenzar, quisiera agradecer a Carlos Gómez Peña y Jesús Poza Crespo, mis tutores de TFM, por seguir confiando en mí para poder llevar a cabo este trabajo, por el apoyo recibido y por la paciencia que mostraron por todas mis dudas e inseguridades durante la realización del mismo. También me gustaría agradecer a Javier Gómez Pilar toda la ayuda prestada, ya que sin su experiencia con este tipo de redes, el trabajo hubiese sido mucho más complejo.

Agradecer también al Grupo de Ingeniería Biomédica (GIB) por toda la ayuda y apoyo que me han dado, pudiendo disfrutar de una gran experiencia. Mención merecen todos los miembros de la línea EEG/MEG. Gracias a su ayuda, pude continuar con este trabajo y superarme día a día en este campo.

A todos mis amigos, tanto de Valladolid como de Cáceres, por todo el apoyo y cariño que han mostrado a lo largo de todos estos años y durante la elaboración de este trabajo. Especial mención a José, por empezar también a comprender lo motivadora y gratificante, además de estresante, que es la vida del investigador.

Por último, pero no por ello menos importante, quiero agradecer a mis padres, José Luis y Nuria, y a mi hermana, Laura, y a toda mi familia todo el esfuerzo realizado, el apoyo que han mostrado en los buenos y malos momentos, y la garantía que me proporcionan al saber que han estado y que siempre estarán a mi lado.

A todos ellos, mencionados implícita o explícitamente, ¡gracias!

Resumen

La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurológica asociada a alteraciones cognitivas, funcionales y conductuales que se desarrollan de forma progresiva. El principal factor de riesgo de esta enfermedad es la edad, por lo que su prevalencia es cada vez mayor debido al envejecimiento de la población. Otros factores de riesgo importantes son el sexo, la genética del paciente, donde toma un papel relevante el gen *APOE*, y diversos hábitos modificables como la dieta o el ejercicio físico, entre otros. Todos estos factores, en su conjunto, poseen un gran potencial como biomarcadores que permiten el análisis de la severidad de la enfermedad. En este Trabajo Fin de Máster (TFM) se introduce una novedosa herramienta, las redes de asociación, que permiten integrar la información proporcionada por todos estos factores en base a las relaciones que existen entre ellos. Gracias a esta metodología, el objetivo de este TFM consiste en identificar la huella fisiopatológica de la EA en cada uno de los estadios de la misma y caracterizar a través de ella la progresión de la enfermedad.

Las redes de asociación obtenidas en este TFM se generaron utilizando diferentes tipos de factores involucrados en el desarrollo de la EA: datos socio-demográficos del paciente, información clínica, medidas extraídas de la actividad eléctrica cerebral e información genética. Para ello, se emplearon dos bases de datos. La primera de ellas es la base de datos del proyecto europeo POCTEP AD-EEGWA, que es la utilizada principalmente, formada por 252 sujetos, de los cuales 51 son controles, 51 son pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) por EA, 50 pacientes con demencia leve por EA, 50 pacientes con demencia moderada por EA, y 50 pacientes con demencia severa por EA. En segundo lugar, y solo empleada para replicación, está la base de datos del Hospital Universitario Río Hortega (HURH), formada por 196 sujetos, de los cuales 45 son controles, 69 son pacientes con DCL por EA, 55 pacientes con demencia leve por EA, y 27 pacientes con demencia moderada por EA. En primer lugar, se generaron las redes de asociación compuestas de diferentes medidas del electroencefalograma (EEG): medidas espectrales, no lineales, de conectividad y de red. Con estas redes se pretende cuantificar la progresión de la EA observando cómo estas se reorganizan y cambian su estructura, replicando con la segunda base de datos para observar si los cambios son similares. En segundo lugar, se generaron las redes genéticas, compuestas por diversos polimorfismos de nucleótido único (SNP) de diferentes genes, para así cuantificar también cómo estas redes se alteran con el paso de la enfermedad. Por último, se obtuvieron dos redes, una global y otra reducida, con todas las métricas, para así observar las asociaciones más relevantes entre ellas. Para todas estas redes se analizó su estabilidad.

Analizando las redes electrofisiológicas se observa que, conforme la EA progresa, aumentan las relaciones entre el mismo tipo de variables, y se reducen las asociaciones entre variables de diferente tipo; en concreto se observa cómo las medidas espectrales y no lineales se agrupan, y a la vez se separan del clúster de las medidas de conectividad y red. Al replicar estas redes con la base de datos HURH, se observan patrones de organización y desestructuración similares. Además, el

análisis de estabilidad muestra que estas redes son estables, permitiendo así su replicación. En segundo lugar, los parámetros de red muestran un cambio de organización y estructura de las redes genéticas, observando las mayores asociaciones entre SNPs en las fases más tempranas de la enfermedad. Sin embargo, el análisis de estabilidad muestra que estas redes son poco estables, por lo que estos resultados deben interpretarse con cautela. Por último, las redes globales muestran asociaciones entre variables previamente analizadas en otros estudios, arrojando el resultado de que todos los factores han de ser considerados para los análisis y para el diagnóstico de la enfermedad debido a la complejidad de la misma, lo cual se refleja en una huella fisiopatológica intrincada. Su análisis de estabilidad muestra que estas redes son bastante estables, aunque no tanto como las electrofisiológicas.

En conclusión, se puede apreciar que esta nueva metodología posee un gran potencial para comprender de forma intuitiva las complejas relaciones que definen la huella fisiopatológica de la EA. Por tanto es posible plantear, a partir de la misma, nuevos métodos de ayuda al diagnóstico y caracterización de la patología, si bien puede extrapolarse a otro tipo de patologías.

Palabras clave

Enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, redes de asociación, datos sociodemográficos, información clínica, electroencefalograma, genética

Abstract

Dementia due to Alzheimer's Disease (AD) is a neurological pathology associated with cognitive, functional, and behavioral alterations progressively developed. As age is its main risk factor, its prevalence is increasing due to the population aging. Other relevant risk factors are sex, inherent genetics, where *APOE* gene plays an important role, and diverse modifiable habits, as diet or physical exercise, among others. All these factors, as a whole, have a great potential as biomarkers that allow an in-depth analysis of the disease. For that purpose, in this Master's Thesis a novel methodological tool is used, association networks, which allows the integration of the information provided by all these factors based on the existing relationships between them. Thus, the aim of this Master's Thesis is to represent the pathophysiological fingerprint on every stage of the AD, and to characterize the disease progression.

The association networks were generated using different kind of factors involved in AD development: socio-demographical data, clinical information, measures computed from the electrical brain activity, and genetic information. To this purpose, two databases were used. The first one was recorded under the european POCTEP AD-EEGWA project, which is the main database, formed by 252 subjects: 51 controls, 51 patients with MCI due to AD, 50 patients with mild dementia due to AD, 50 patients with moderate dementia due to AD, and 50 patients with severe dementia due to AD. For replication purposes, an additional database acquired at the "Rio Hortega" University Hospital (HURH) was also used; it was formed by 196 subjects, subdivided into: 45 controls, 69 patients with MCI due to AD, 55 patients with mild dementia due to AD, and 27 patients with moderate dementia due to AD. Firstly, association networks were generated by calculating several measures from electroencephalography (EEG) recordings: spectral, non-linear, connectivity, and graph theory methods. These networks were used to assess structural and organizational changes on the relationships between neurophysiological parameters as AD progresses. Afterwards, replication was carried out using the HURH database to analyze similarities between both types of networks. Secondly, genetics networks were generated, formed by several single-nucleotide polymorphisms (SNP) from different genes, to quantify how these networks are altered along AD continuum. Lastly, a global and a reduced network were obtained using all types of metrics to analyze the most relevant associations between them. For all the networks, a stability analysis was carried out.

In the case of the electrophysiological networks, it can be observed that, as AD progresses, the relationships between variables from the same kind increase, whereas they decrease in the case of variables from different type; in particular, our results showed that spectral and non-linear methods are more clustered but at the same time are more separated from connectivity and network variables. In the HURH database, similar organization and destructuring patterns are observed. Moreover, stability analysis showed that these networks are stable, thereby they can be easily replicated. Secondly, network parameters showed structural and organization changes on the ge-

netic networks; specifically, stronger associations between SNPs in early stages of the disease are observed. However, stability analysis showed that these networks are not stable, so these results must be interpreted with caution. Lastly, global networks displayed between-variables associations previously analyzed in other studies; this result suggests that all these factors have to be considered for both disease characterization and diagnosis due to its complexity, which is reflected in an intricate pathophysiological fingerprint. In this case, networks are quite stable, but less than the previous ones.

To conclude, it can be appreciated that this new methodology has a great potential to understand in a intuitive way the complex relations that define the AD pathophysiological fingerprint. Hence, this methodology might be considered to generate useful tools for aiding in early diagnosis of AD, even though it can be also used to analyze other pathologies.

Keywords

Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, association networks, socio-demographical data, clinical information, electroencephalogram, genetics

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Introducción al procesado de señales biomédicas	2
1.2. Demencia debida a la enfermedad de Alzheimer	3
1.3. Hipótesis	4
1.4. Objetivos	4
1.5. Descripción del documento	4
2. La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer	7
2.1. Introducción	8
2.2. Fisiología patológica	9
2.3. Factores de riesgo	10
2.4. Diagnóstico y biomarcadores	11
2.5. Tratamientos existentes	12
3. Electroencefalografía	15
3.1. Introducción a la electroencefalografía	16
3.2. Historia de la electroencefalografía	17
3.3. Neurofisiología	17
3.4. Ritmos cerebrales en el EEG	18
3.5. Registro del EEG	19
3.6. Alteraciones en la actividad electroencefalográfica debidas a la evolución de la demencia por la enfermedad de Alzheimer	20
4. Materiales y métodos	27
4.1. Introducción	28
4.2. Base de datos empleadas	28
4.2.1. Datos clínicos y sociodemográficos POCTEP	28
4.2.2. Datos clínicos y sociodemográficos HURH	29
4.2.3. Datos neurofisiológicos	29
4.2.4. Método de localización de fuentes: sLORETA	31
4.2.5. Información genética	32
4.3. Redes de asociación	33
4.3.1. Test chi-cuadrado	33
4.3.2. Parámetros implicados en el análisis	34
4.3.3. Homogeneización y normalización de variables neurofisiológicas	36
4.4. Imputación de datos faltantes	36
4.5. Análisis de la estabilidad de las redes	38

5. Resultados	41
5.1. Introducción	42
5.2. Redes electrofisiológicas	42
5.2.1. Base de datos POCTEP	42
5.2.2. Estabilidad de las redes POCTEP	49
5.2.3. Base de datos HURH	52
5.2.4. Estabilidad de las redes HURH	57
5.3. Redes genéticas	59
5.3.1. Estabilidad de red	61
5.4. Redes globales	65
5.4.1. Estabilidad de red	68
6. Discusión y limitaciones	71
6.1. Introducción	72
6.2. Redes electrofisiológicas	72
6.3. Redes genéticas	75
6.4. Redes globales	76
6.5. Limitaciones	79
7. Conclusiones y líneas futuras	81
7.1. Introducción	82
7.2. Cumplimiento de los objetivos del Trabajo Fin de Máster	82
7.3. Conclusiones	83
7.4. Líneas futuras	83
A. Glosario de Siglas y Acrónimos	87
Bibliografía	95

Índice de figuras

2.1. Muestra cerebral en la que se aprecian placas de $A\beta$ y ovillos de tau fosforilada. Imagen adaptada de (Blennow et al., 2006).	9
3.1. Diferentes tipos de registros de la actividad eléctrica cerebral (EEG superficial, ECoG y LFP). Imagen adaptada de (Buzsáki et al., 2012).	16
3.2. Ritmos cerebrales que pueden apreciarse en un registro de EEG. Imagen adaptada de (Jafari et al., 2020).	18
3.3. Sistemas 10-10 (a) y 10-20 (b) de colocación de electrodos. Imagen adaptada de (Song et al., 2015).	20
3.4. Densidad espectral de potencia (PSD) de sujetos de control (azul) y pacientes con demencia debida a la EA (rojo). Se aprecia que la potencia en las bandas de frecuencia bajas es mayor en los pacientes que en los sujetos de control, mientras que la potencia de las bandas de alta frecuencia es menor.	22
4.1. Respuesta al impulso del filtro FIR paso banda comprendido entre 0.4 y 70 Hz.	31
4.2. Respuesta al impulso del filtro FIR elimina banda comprendido entre 49.8 y 50.2 Hz.	31
4.3. Época EEG seleccionando los electrodos O1 y O2 sin aplicar ICA (arriba) y con ICA aplicado (abajo). Imagen adaptada de (Rodríguez, 2018).	32
4.4. Ejemplo de redes de asociación generadas inicialmente. (a) Red mediante el algoritmo Fruchterman-Reingold; (b) red mediante el algoritmo Force Atlas 2. Los diferentes tonos de azul y el tamaño de los nodos representan el grado de cada nodo. Cuanto más grande y oscuro sea el nodo, mayor es el grado de nodo. El grosor de los enlaces representa el valor de la asociación entre variables, cuanto mayor sea este valor, mayor es el grosor del enlace.	34
4.5. Ejemplo de red de asociación mediante el algoritmo Force Atlas 2, en la cual la técnica se ha depurado, pudiendo utilizarse para exponer resultados. En esta red se pueden observar datos sociodemográficos (violeta), información clínica (naranja), medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), e información genética (cian). El grosor del enlace representa el valor de asociación entre variables, cuanto mayor sea dicho valor, el grosor será mayor.	35
4.6. Resumen de imputación para una de las redes realizadas. La figura de la izquierda representa la proporción de datos (sobre 1) que faltan en cada variable. La figura de la derecha indica qué proporción de datos (sobre 1) están ausentes de manera simultánea en diferentes variables para un sujeto.	38

4.7.	Representación gráfica de la densidad de probabilidad de los diferentes valores de las variables con datos faltantes inicialmente (azul) y la densidad de probabilidad de las estimaciones de dichos datos (rojo). El eje de abscisas indica el rango de valores que puede tomar dicha variable, y el eje de ordenadas representa el valor de densidad de probabilidad de los valores de las variables.	39
4.8.	Ejemplo de gráfica de estabilidad de red. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	40
5.1.	Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de controles de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	44
5.2.	Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	45
5.3.	Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	46
5.4.	Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	47
5.5.	Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia severa por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	48
5.6.	Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de controles de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	49
5.7.	Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	50

5.8. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	50
5.9. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	51
5.10. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia severa por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	51
5.11. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de controles de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	53
5.12. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	54
5.13. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	55
5.14. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	56
5.15. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes de control de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	57

5.16. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.12. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	58
5.17. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.13. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	58
5.18. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.14. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	59
5.19. Resumen de las redes asociación de métricas de EEG para las dos bases de datos empleadas en este TFM. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).	60
5.20. Redes de asociación con información genética de los diferentes grupos bajo estudio: (a) controles; (b) pacientes con DCL por EA; (c) pacientes con demencia leve por EA; (d) pacientes con demencia moderada por EA; y (e) pacientes con demencia severa por EA. Los diferentes clústers coloreados se obtuvieron con el método de Newman.	62
5.21. Gráfica de estabilidad de red para la red genética de los controles de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	63
5.22. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con DCL de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	63
5.23. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA leve de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	64

5.24. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA moderada de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	64
5.25. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA severa de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	65
5.26. Red de asociación global inicial. Medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), medidas de conectividad (amarillo), medidas de red (naranja), información genética (azul claro), datos sociodemográficos (rojo), información clínica (morado).	67
5.27. Red de asociación global reducida, con medidas de dinámica de conectividad y parámetros de red. Medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), medidas de conectividad (amarillo), medidas de dinámica (naranja) información genética (azul claro), datos sociodemográficos (rojo), información clínica (morado).	68
5.28. Gráfica de estabilidad de red para la red global de la figura 5.26. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	69
5.29. Gráfica de estabilidad de red para la red global reducida de la figura 5.27. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con <i>bootstrap</i> . En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con <i>bootstrap</i> son estadísticamente significativos.	69

Índice de tablas

2.1. Nuevos criterios que se aplican al diagnóstico de la EA. A indica la presencia de proteína $A\beta$ o estado patológico asociado. T marca la presencia de proteína tau fosforilada o estado patológico asociado. N muestra daño neurodegenerativo y/o neuronal. La presencia de un + o un - simboliza la presencia o no de cada uno de los biomarcadores anteriormente mencionados. Tabla adaptada de (Jack et al., 2018).	12
3.1. Estudios analizados previamente (I)	24
3.2. Estudios analizados previamente (II)	25
3.3. Estudios analizados previamente (III)	26
4.1. Datos sociodemográficos y clínicos de la base de datos POCTEP. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (<i>standard deviation</i>).	29
4.2. Datos sociodemográficos y clínicos de los tres grupos de EA de la base de datos POCTEP. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (<i>standard deviation</i>).	29
4.3. Datos sociodemográficos y clínicos de la base de datos HURH. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (<i>standard deviation</i>).	30
4.4. Datos sociodemográficos y clínicos de los 2 grupos de EA de la base de datos HURH. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (<i>standard deviation</i>).	30
5.1. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes neurofisiológicas de cada uno de los grupos de la base de datos POCTEP	49
5.2. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes neurofisiológicas de cada uno de los grupos de la base de datos HURH.	57
5.3. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes genéticas de cada uno de los grupos bajo análisis.	61

Capítulo 1

Introducción

1.1. Introducción al procesado de señales biomédicas	2
1.2. Demencia debida a la enfermedad de Alzheimer	3
1.3. Hipótesis	4
1.4. Objetivos	4
1.5. Descripción del documento	4

1.1. Introducción al procesamiento de señales biomédicas

Este Trabajo Fin de Máster (TFM) se engloba dentro del campo de la Ingeniería Biomédica; concretamente, dentro del área de procesamiento de señales biomédicas. En este campo se emplean los conocimientos propios de la ingeniería para obtener información, caracterizar y/o controlar el sistema biológico analizado, así como diseñar y fabricar diferentes dispositivos capaces de registrar funciones fisiológicas y apoyar tanto el diagnóstico como el tratamiento de los pacientes (Bronzino, 2006).

Una señal se define como un fenómeno que transmite información. Por tanto, una señal biomédica es aquella señal que aporta información sobre el sistema biológico que se desea tratar (Cohen, 2006). Estas señales pueden ser generadas a partir de numerosos tipos de fuentes, obteniendo señales eléctricas (p. ej. registros de electroencefalografía, electrocardiografía, electromiografía y electrooculografía), magnéticas (p. ej. registros de magnetocardiografía y magnetoencefalografía), ópticas (p. ej. registros de pulsioximetría), mecánicas (p. ej. registros de mecanomiografía y espirometría), acústicas (p. ej. fonocardiograma y ecografía), químicas (p. ej. presiones parciales de oxígeno), etc. Además, estas señales pueden dividirse según su aplicación (p. ej. neurología u oftalmología), o según las características intrínsecas de la señal (p. ej. continuas o discretas) (Cohen, 2006).

Inicialmente, los expertos realizaban inspecciones basadas en criterios subjetivos a la hora de determinar diferentes propiedades de la señal, tales como la frecuencia, amplitud, patrones espaciales, etc. La obtención de dichas propiedades era compleja y dependía en gran medida del especialista (Martí, 1988). El procesamiento de señales biomédicas proporciona una estimación precisa de dichas propiedades de una manera directa, simple y objetiva.

De forma genérica, el procesamiento de señales biomédicas se divide en tres fases, subdivididas a su vez en varias (Poza, 2008):

1. Adquisición de las señales

- i. Registro, muestreo, cuantificación y digitalización de las señales biomédicas.
- ii. Preprocesado de la señal para eliminar agentes espurios y artefactos de otros elementos internos y externos del propio sistema biológico.
- iii. Almacenamiento y/o transmisión de las señales preprocesadas.

2. Procesado

- i. División de los registros.
- ii. Filtrado y/o transformación de los registros.
- iii. Detección de los patrones que se desea analizar.

3. Análisis estadístico y clasificación

- i. Análisis exploratorio e inferencia estadística a nivel de población.
- ii. Análisis de clasificación.

En el presente TFM se va a analizar la señal biomédica obtenida de la actividad eléctrica producida por el cerebro, denominada electroencefalograma (EEG). La actividad EEG registra los

campos eléctricos generados por el cerebro a través de electrodos colocados sobre el cuero cabelludo. Dichos campos son producidos por el intercambio de señales electroquímicas entre diferentes neuronas (Cohen, 2017). Concretamente, las señales empleadas en este TFM corresponden a controles de avanzada edad cognitivamente sanos y pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA).

1.2. Demencia debida a la enfermedad de Alzheimer

La demencia debida a la EA es una patología neurodegenerativa que produce alteraciones conductuales, funcionales y cognitivas de manera progresiva. Fisiológicamente, en el cerebro de los pacientes surgen dos tipos de lesiones: placas seniles de proteína beta-amiloide ($A\beta$) y ovillos neurofibrilares compuestos de proteína tau anormalmente fosforilada (Blennow et al., 2006; Cummings et al., 2004; Long and Holtzman, 2019). Comúnmente, dichas lesiones aparecen en dos zonas concretas: el hipocampo y la zona cortical. Aún así, se desconoce el hecho de si estas lesiones son una causa o una consecuencia de la aparición de la EA (Blennow et al., 2006; Long and Holtzman, 2019).

Por otra parte, la progresión del deterioro cognitivo que caracteriza a la EA parece estar influenciada por diferentes factores, como la edad, el sexo o la genética, además de diversos riesgos modificables, como el tabaquismo, el alcoholismo y la contaminación, entre otras (Livingston et al., 2020). No obstante, el principal factor de riesgo de la EA es la edad; su prevalencia es del 32 % en personas mayores de 85 años (Livingston et al., 2020). Por otro lado, la EA afecta a más mujeres que hombres, por lo que el sexo también posee un papel relevante en el desarrollo de la enfermedad (Riedel et al., 2016). Diversos estudios de asociación del genoma completo (GWAS) han identificado diferentes genes asociados al riesgo de desarrollar EA, como son *apolipoproteína E (ApoE)*, *phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein (PICALM)* y *clusterina (CLU)* (Bettens et al., 2013; Karch and Goate, 2015). Estos genes se relacionan con el riesgo de desarrollar la enfermedad de diferentes formas, como el metabolismo del colesterol y otros lípidos o el sistema inmunitario, entre otros (Bettens et al., 2013; Karch and Goate, 2015).

Se ha identificado un estado intermedio entre el envejecimiento normal y un estadio temprano de la EA: el DCL por EA. Este está considerado como una condición patológica, pero no suficientemente severa como para ser considerada EA (Petersen, 2004). De forma más concreta, el DCL es identificado como un estado precursor de la EA debido a que los pacientes pueden presentar diversos síntomas precedentes de la misma (Blennow et al., 2006; Petersen et al., 1999).

En los tiempos recientes se han desarrollado numerosos tratamientos que tratan de ralentizar el avance y los síntomas del deterioro cognitivo y funcional, así como otras cuyo propósito es frenar el avance de la enfermedad (Ashford, 2019; Long and Holtzman, 2019). Sea como fuere, un diagnóstico precoz y efectivo es crucial para incrementar la efectividad de los tratamientos previamente mencionados. Sin embargo, el diagnóstico clínico es complejo y requiere la elaboración de estudios complementarios que hacen esta tarea muy laboriosa (McKhann et al., 1984; Poza, 2008; Sabbagh et al., 2017). Por ello, se requiere continuar investigando nuevos biomarcadores a través de diferentes modalidades, como la neurofisiología, la neuroimagen y/o estudios genéticos para poder incrementar la eficacia del diagnóstico (Long and Holtzman, 2019; Sabbagh et al., 2017).

1.3. Hipótesis

La hipótesis de partida de este TFM es que la EA es una patología muy compleja, y que para obtener un diagnóstico precoz y preciso acorde a esta complejidad se debe integrar, desde un enfoque global, diversa información de diferente índole que proporcione información sobre diferentes niveles de análisis: datos sociodemográficos, información clínica, datos electrofisiológicos, e información genética. Por ello, en este TFM se propone **describir las complejas relaciones existentes entre los factores involucrados en esta enfermedad durante el desarrollo de la misma mediante la caracterización de la huella fisiopatológica de la EA a partir de la información obtenida de diferentes niveles de análisis**, permitiendo estudiar los diferentes procesos involucrados en el deterioro que la EA produce.

1.4. Objetivos

El objetivo de este TFM consiste en **analizar la asociación existente entre los diferentes factores que intervienen en el desarrollo de la EA, como fisiológicos, sociodemográficos, clínicos y genéticos, a través de una novedosa metodología que nos permite realizar y representar este análisis de manera directa y sencilla: las redes de asociación**. Para ello, se calcularán diferentes medidas espectrales, no lineales, de conectividad y de red a partir de la actividad eléctrica cerebral registrada mediante EEG. De esta manera, y en conjunto con los otros factores propios de cada uno de los sujetos que intervienen en este estudio (i.e., datos sociodemográficos, información clínica y datos genéticos), se espera identificar la huella fisiopatológica de la EA y el DCL, pudiéndose aplicar este nuevo conocimiento a la mejora de su diagnóstico.

Para la consecución de este objetivo, se habrán de cumplir los siguientes objetivos específicos:

- i. Buscar información sobre medidas aplicables a las señales EEG, así como sobre genética y de redes de asociación.
- ii. Adquirir habilidades en el manejo del software que implementa las redes de asociación e implementar desarrollos adicionales en MATLAB y R.
- iii. Evaluar y procesar las bases de datos empleadas, compuestas por sujetos de control cognitivamente sanos, pacientes con DCL y pacientes con EA.
- iv. Representar las asociaciones significativas existentes entre los diferentes factores mediante el uso de las redes de asociación.
- v. Deducir comportamientos y tendencias asociados al desarrollo del DCL y la EA a partir de las redes obtenidas.
- vi. Analizar los resultados extraídos y compararlos con estudios existentes en la literatura.
- vii. Extraer conclusiones a partir de los resultados obtenidos.

1.5. Descripción del documento

Este apartado trata sobre la estructura del TFM, que está dividido en 7 capítulos. El presente capítulo es el primero de ellos y consiste en una breve introducción al TFM. El resto de los capítulos, junto a un breve resumen de sus contenidos, se comentan a continuación:

- **Capítulo 2. La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer.** En este capítulo se describirán las principales alteraciones que provoca la EA, su sintomatología, factores de riesgo asociados, métodos de diagnóstico y posibles tratamientos.
- **Capítulo 3. Electroencefalografía.** En este capítulo se hará un repaso del origen del EEG, así como su evolución con el paso del tiempo. Posteriormente se abarcarán diversos aspectos de la actividad eléctrica cerebral: cómo se genera, cómo se la identifica, y cómo y de qué manera esta se registra. Por último, en este capítulo se discutirán los diferentes aspectos en los que la actividad eléctrica cerebral se ve afectada por la EA.
- **Capítulo 4. Materiales y métodos.** En este capítulo se expondrá, en primer lugar, las 2 bases de datos utilizadas. Posteriormente, se comentará la nueva metodología empleada para construir la red de relaciones entre las diversas variables: las redes de asociación. Junto a estas, se explicarán diferentes métodos para poder generarlas. Por último, se comentarán los métodos de imputación de datos faltantes, de gran utilidad para completar bases de datos que no poseen todos sus datos, y los análisis de estabilidad de red, empleados para determinar si las redes pueden replicarse con datos distintos.
- **Capítulo 5. Resultados.** En este capítulo se presentarán los resultados obtenidos. Por un lado, se expondrán las redes electrofisiológicas de la base de datos POCTEP, con sus gráficas de estabilidad de red. Además, se obtendrán las redes electrofisiológicas de la base de datos HURH para comprobar que se consigue un cierto grado de replicación. En segundo lugar, se presentarán las redes genéticas acompañadas de sus gráficas de estabilidad. Por último, se presentarán las redes globales, con todo tipo de factores incluidos, con sus gráficas de estabilidad.
- **Capítulo 6. Discusión y limitaciones.** Se procederá en este capítulo a dar una explicación a los resultados obtenidos, con hipótesis acompañadas de artículos que las soporten y otros trabajos cuyos resultados apoyen los obtenidos en este TFM.
- **Capítulo 7. Conclusiones y líneas futuras.** En este último capítulo se mostrarán una serie de conclusiones extraídas de este TFM. Se hará un balance de los objetivos logrados y se describirán una serie de líneas futuras a realizar.

Capítulo 2

La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer

2.1. Introducción	8
2.2. Fisiología patológica	9
2.3. Factores de riesgo	10
2.4. Diagnóstico y biomarcadores	11
2.5. Tratamientos existentes	12

2.1. Introducción

La demencia debida a la EA es una enfermedad de carácter neurodegenerativo que ataca al sistema nervioso central, produciendo déficits de tipo fisiológico y de conducta (Alzheimer's Association, 2021; Scheltens et al., 2016). Fue descrita en primera instancia por el neuropatólogo alemán Aloysius 'Alöis' Alzheimer en 1907, llegando a ser a día de hoy el tipo de demencia más común en el mundo occidental (Bondi et al., 2017; Livingston et al., 2020; Scheltens et al., 2016). En 2020, alrededor de 50 millones de personas sufrían demencia, y se prevé que este número se incremente hasta 152 millones en 2050 (Livingston et al., 2020). La prevalencia de la EA depende de la edad, estando en torno al 1 % en personas con 60 años, y sufriendo un crecimiento exponencial hasta llegar al 30 % en personas mayores de 85 años (Cummings et al., 2004; Scheltens et al., 2016).

Se cree que la EA comienza 20 años o más antes de que los primeros síntomas se muestren, produciendo pequeños cambios a nivel cerebral a priori indetectables para el paciente (Alzheimer's Association, 2021). Con el paso del tiempo, el paciente comienza a sufrir los primeros síntomas de apraxia, afasia y agnosia, aunque existe una gran heterogeneidad entre sujetos (Scheltens et al., 2016; Sun et al., 2019). Estos problemas tienden a agravarse, llegando a impedir gravemente al paciente la ejecución de tareas diarias (Scheltens et al., 2016). Hacia el final de la enfermedad, el paciente queda postrado en una cama, hasta su fallecimiento (Alzheimer's Association, 2021).

Durante el progreso de la enfermedad, el deterioro de las funciones cognitivas de los pacientes viene dado por la eliminación gradual de las neuronas, apareciendo dos tipos de lesiones principales en el cerebro a nivel estructural: placas seniles compuestas por depósitos de proteína $A\beta$ y ovillos neurofibrilares de proteína tau fosforilada (Cummings et al., 2004; Poza, 2008). Las principales consecuencias de esta acumulación anormal son la disfunción de las sinapsis neuronales y alteraciones en los mecanismos de secreción de estas proteínas, generando una mayor acumulación de estas, y agravando la situación del paciente (Zetterberg and Bendlin, 2020).

Si bien para el diagnóstico de la EA se emplean elementos como el historial clínico del paciente, exámenes neurológicos o técnicas de neuroimagen, para realizar un diagnóstico definitivo se requiere realizar una biopsia *postmortem* (Scheltens et al., 2016). Sin embargo, en los últimos años se han añadido nuevos biomarcadores y metodologías que permiten incrementar la precisión diagnóstica en vida (Jack et al., 2018). A este respecto, numerosos estudios han demostrado que la EA produce alteraciones de la actividad electromagnética neuronal de los pacientes. A pesar de ello, las técnicas neurofisiológicas no se emplean como herramienta para el diagnóstico de la EA (Abásolo et al., 2006; Gómez et al., 2009; Jeong, 2004; Stam et al., 2005).

En este capítulo se describirán las principales características de la EA en sus diferentes estadios, su sintomatología, una descripción de los métodos diagnósticos más empleados y una serie de tratamientos existentes para intentar frenar su avance.

2.2. Fisiología patológica

La EA es una patología progresiva que provoca pérdida de memoria episódica y deterioro de las funciones cognitivas (Scheltens et al., 2016). A nivel fisiológico, está caracterizada por la aparición de placas seniles y ovillos neurofibrilares en el lóbulo temporal medio y en áreas corticales del cerebro, produciendo una degeneración de las neuronas y de sus sinapsis (Poza, 2008; Scheltens et al., 2016).

Por una parte, las placas seniles se componen de depósitos de proteína $A\beta$ que se acumulan entre las sinapsis de las células nerviosas. Por otro lado, los ovillos neurofibrilares se componen de estructuras emparejadas helicoidales en forma de filamentos de proteína tau anormalmente fosforilada, que impide el transporte intercelular, desembocando así en la muerte de la neurona (Cummins et al., 2004; Poza, 2008). Se ha encontrado una cierta relación entre la disposición de estas placas seniles y ovillos neurofibrilares y la severidad de la EA, por lo que han sido identificados como dos biomarcadores efectivos del progreso de la enfermedad (Jack et al., 2018; Livingston et al., 2020; Scheltens et al., 2016). En la figura 2.1 se pueden observar la disposición de estas lesiones en una muestra de tejido cerebral.

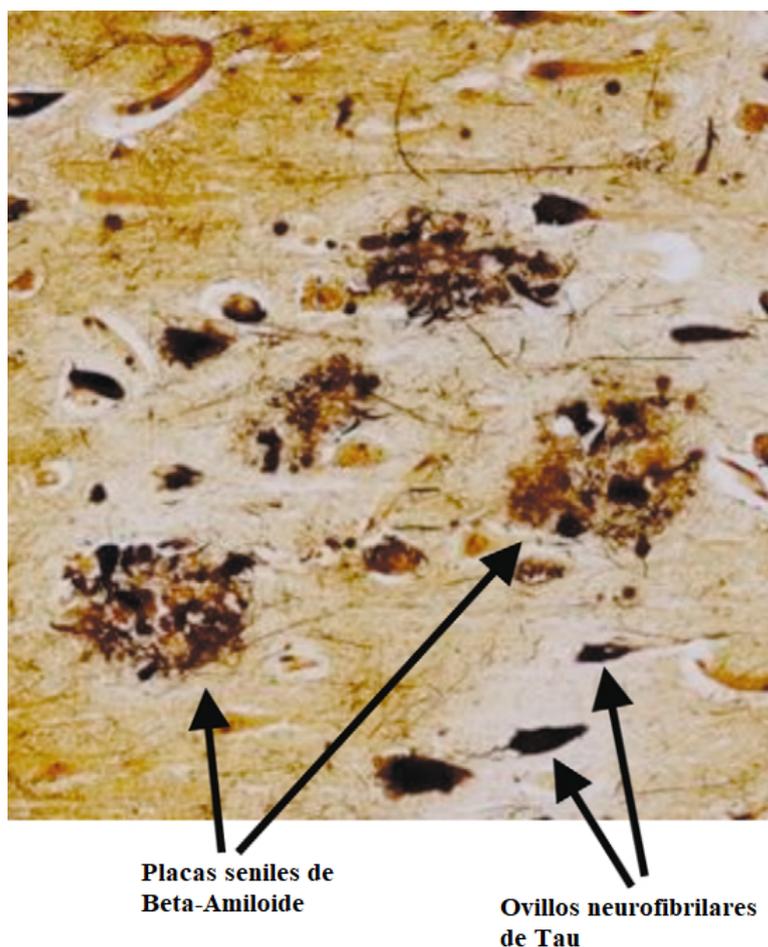


Figura 2.1. Muestra cerebral en la que se aprecian placas de $A\beta$ y ovillos de tau fosforilada. Imagen adaptada de (Blennow et al., 2006).

2.3. Factores de riesgo

Como se ha especificado, la demencia por EA presenta una serie de lesiones fisiológicas características, como son las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. Aunque se encuentran asociadas a la presencia de la enfermedad, su origen es aún desconocido. Es por ello que se suelen considerar diversos factores de riesgo que pueden influir en la aparición de la enfermedad (Baumgart et al., 2015; Karch and Goate, 2015; Vally and Kathrada, 2019). En concreto, los factores de riesgo que más influyen son:

- 1. Factores sociodemográficos.** El factor de riesgo más importante para el desarrollo de la EA es la edad debido al gran número de casos diagnosticados en personas mayores de 65 años, si bien la edad por sí sola no es un factor suficiente para causar la patología (Riedel et al., 2016). Por otro lado, el género es también otro factor a mayores a tener en cuenta, ya que hay una mayor prevalencia en mujeres que en hombres, aunque esto podría ser debido a una mayor longevidad por parte de las mujeres, ya que la incidencia es comparable entre ambos sexos (Riedel et al., 2016). Por último, enfermedades como la diabetes, la obesidad o la hipertensión pueden ser también factores propicios para el desarrollo de la EA, e incluso el historial familiar, ya que el riesgo se incrementa al tener familiares de primer grado que hayan sufrido este tipo de demencia (Alzheimer's Association, 2021; Livingston et al., 2020). Por último, otros factores modificables como la adicción al tabaco, al alcohol, o la exposición a altos niveles de contaminación ambiental o a diferentes sustancias como pesticidas o metales tóxicos, entre otros, también son propicios para el desarrollo de la enfermedad (Livingston et al., 2020).
- 2. Genética.** Numerosos estudios GWAS han analizado el genoma humano, encontrando diferentes genes que parecen proporcionar un factor de riesgo añadido al desarrollo de la EA. El gen que mayor influencia parece tener es el gen *APOE*, el cual se encuentra en el cromosoma 19 y codifica a la proteína APOE, cuya función es coordinar el transporte de colesterol entre células y redistribuir el colesterol intracelular (Karch and Goate, 2015; Riedel et al., 2016). Esta función es crítica en el sistema nervioso, ya que mantiene la mielina y la membranas neuronales tanto en el sistema nervioso central como en el periférico (Riedel et al., 2016). Este gen posee tres alelos, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$, los cuales se diferencian en la sustitución de un aminoácido, que son la cisteína y la arginina en las posiciones 112 y 158, teniendo el alelo $\epsilon 2$ una cisteína en cada posición, y el alelo $\epsilon 3$ una cisteína en la posición 112 y una arginina en la posición 158 (Riedel et al., 2016). Sin embargo, es el alelo $\epsilon 4$, que posee una arginina en ambas posiciones, el que provoca un incremento de los niveles de colesterol plasmático y LDL, predisponiendo al sujeto portador a patologías cardiovasculares y neurodegenerativas, sobre todo en la población europea (Riedel et al., 2016).

Existen también otra serie de genes que pese no tener una influencia tan elevada como la del gen *APOE*, sí que parecen influir en el desarrollo de la EA. Entre estos podemos encontrar al gen *PICALM*, que se encuentra en el cromosoma 11, y se encarga de regular la clatrina y la *adaptor protein complex 2* (AP2) en las células neuronales (Karch and Goate, 2015). *PICALM* también está asociado a los autofagosomas, sugiriendo que este gen puede estar involucrado en el proceso de generación y limpieza de la proteína $A\beta$, pudiendo así tener un papel relevante en el proceso de acumulación en placas seniles (Karch and Goate, 2015). También podemos encontrar al gen *CLU* en el cromosoma 8. Este codifica a una apolipoproteína con el mismo nombre, y tiene como funciones principales la apoptosis o muerte celular programada, transporte de lípidos, protección de la membrana celular e interacciones célula

a célula (Karch and Goate, 2015). Se ha detectado que un alto nivel de clusterina plasmática está asociado a la atrofia cerebral y a la severidad y progresión de la enfermedad. Es por ello que es posible detectarla en las placas seniles de $A\beta$ (Karch and Goate, 2015).

A mayores de estos genes mencionados anteriormente, se han encontrado diversos loci que pueden estar relacionados con la EA. Dentro de estos nuevos genes asociados al riesgo de desarrollar EA, podemos encontrar al *CRI*, *SORL1*, *BINI*, *ABCA7*, *EPHA1* o *CELF1*, entre otros (Bettens et al., 2013; Karch and Goate, 2015).

- 3. Otros factores.** Los traumatismos cerebrales, independientemente de la gravedad de los mismos, son propicios para el desarrollo de la enfermedad (Alzheimer's Association, 2021). El nivel de estudios del paciente también influye, ya que distintos estudios han apreciado una mayor reserva cognitiva en sujetos con un mayor nivel de estudios que ayuda a compensar los cambios que derivan en la EA, disminuyendo la probabilidad de sufrir esta patología (Alzheimer's Association, 2021; Stern, 2012).

2.4. Diagnóstico y biomarcadores

El diagnóstico de la EA fue unificado en 1984, año en el que se publican los criterios a seguir para realizar este diagnóstico, expuestos por parte del NINCDS-ADRDA (*National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Strokes - Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*) (McKhann et al., 1984). Estos han sido revisados periódicamente por el NIA-AA (*National Institute on Aging - Alzheimer's Association*) para incluir nuevas herramientas y biomarcadores que permitiesen obtener un diagnóstico más preciso, adecuándolos para ser empleados sin la necesidad de tener acceso a recursos avanzados como técnicas de neuroimagen (McKhann et al., 2011). Debido a ello, el NIA-AA estableció una serie de pasos para poder llevar a cabo este diagnóstico y poder diferenciar entre Alzheimer preclínico, DCL, demencia probable y demencia posible (Albert et al., 2011; McKhann et al., 2011; Sperling et al., 2011). Sin embargo, estos diagnósticos se establecieron por separado. No fue hasta 2018 cuando, de nuevo, el NIA-AA unificó estos diagnóstico, añadiendo además nuevos biomarcadores, como la concentración de proteína $A\beta$, concentración de proteína tau fosforilada o presencia de daño neurodegenerativo y/o neuronal (Jack et al., 2018).

Este nuevo protocolo de diagnóstico, que puede apreciarse en la tabla 2.1, unifica y renueva la detección de los distintos estadios de la enfermedad teniendo también en cuenta no solo sintomatología, sino también los biomarcadores anteriormente mencionados. Se puede ver que también se consigue diferenciar a los pacientes con DCL debido a que su perfil difiere del de un sujeto cognitivamente sano, pero no es suficientemente severo como para ser catalogado como paciente de EA (Petersen, 2016). Este hecho es importante, ya que algunas investigaciones comentan que entre un 10 % y un 20 % de las personas mayores de 65 años padecen este trastorno (Alzheimer's Association, 2021). Por otra parte, también se consigue catalogar a los pacientes con EA preclínica a partir de los nuevos biomarcadores, ya que esta es una fase crucial para poder detectar con mucha anterioridad la enfermedad y poder intervenir con las terapias adecuadas (Sperling et al., 2011).

Para realizar el diagnóstico clínico, las pautas ofrecidas por el NIA-AA se complementan con diferentes tests neurológicos, siendo algunos de los más empleados el *Mini - Mental State Examination* (MMSE) para cognición, el *Memory Alteration Test* (T@M) para alteraciones de memoria, el *Bayer - Activities of Daily Living* (Bayer-ADL) para actividades rutinarias, y el cuestionario

		Estado cognitivo		
		Cognitivamente sano	DCL	Demencia
Biomarcador	$A^{-}T^{-}(N)^{-}$	Biomarcadores de EA normales, sano	Biomarcadores de EA normales, con DCL	Biomarcadores de EA normales, con demencia
	$A^{+}T^{-}(N)^{-}$	Cambios patológicos preclínicos asociados a la EA	Cambios patológicos asociados a la EA, con DCL	Cambios patológicos asociados a la EA, con demencia
	$A^{+}T^{+}(N)^{-}$	EA preclínica	EA con DCL (EA prodrómico)	EA con demencia
	$A^{+}T^{+}(N)^{+}$			
	$A^{+}T^{-}(N)^{+}$	Cambios patológicos asociados y no asociados a la EA, sano	Cambios patológicos asociados y no asociados a la EA, con DCL	Cambios patológicos asociados y no asociados a la EA, con demencia
	$A^{-}T^{+}(N)^{-}$	Sin cambios patológicos asociados a la EA, sano	Sin cambios patológicos asociados a la EA, con DCL	Sin cambios patológicos asociados a la EA, con demencia
$A^{-}T^{-}(N)^{+}$				
$A^{-}T^{+}(N)^{+}$				

Tabla 2.1. Nuevos criterios que se aplican al diagnóstico de la EA. **A** indica la presencia de proteína $A\beta$ o estado patológico asociado. **T** marca la presencia de proteína tau fosforilada o estado patológico asociado. **N** muestra daño neurodegenerativo y/o neuronal. La presencia de un + o un - simboliza la presencia o no de cada uno de los biomarcadores anteriormente mencionados. Tabla adaptada de (Jack et al., 2018).

de reserva cognitiva (CRC) para la cuantificación de la reserva cognitiva (Erzigkeit et al., 2001; Folstein et al., 1975; Rami et al., 2007, 2011). No obstante, el uso exclusivo de estos tests no proporciona la suficiente precisión en el diagnóstico como para llegar a ser fiable (Sabbagh et al., 2017).

Para complementar a estas herramientas, existen varias técnicas de neuroimagen, entre las que se encuentran la tomografía por emisión de positrones (PET) o la imagen de resonancia magnética (MRI), empleadas en la detección de los nuevos marcadores incluidos por el NIA-AA en 2018, y permiten medir la progresión de la patología en pacientes a través de la detección de cambios estructurales *in vivo* (Alzheimer's Association, 2021; Zetterberg and Bendlin, 2020). Desde un tiempo atrás, se están analizando el EEG y la magnetoencefalografía (MEG) como potenciales herramientas para complementar el diagnóstico (Jeong, 2004; Stam, 2010). Estas técnicas están siendo utilizadas en numerosos estudios, demostrando tener un gran potencial para mostrar cómo la enfermedad progresa con el paso del tiempo (Escudero et al., 2006; Gómez et al., 2009; Núñez et al., 2021). No obstante, es de obligada necesidad continuar investigando para incrementar la precisión de las nuevas metodologías para clasificar adecuadamente a los sujetos y/o pacientes.

2.5. Tratamientos existentes

La EA, por el momento, es una enfermedad que no tiene cura. Sin embargo, sí existen algunas terapias que tratan de ralentizar la aparición de esta o de frenar su avance. Estas se dividen en dos grupos (Alzheimer's Association, 2021):

- **Terapias farmacológicas.** Estas se basan en el uso de diferentes medicamentos que incre-

mentan el número de neurotransmisores para así tratar de paliar los síntomas y ralentizar el avance de la enfermedad. Tienden a mejorar la calidad de vida del sujeto de forma temporal, ya que las existentes en la actualidad no son capaces de frenar el avance de la enfermedad (Alzheimer's Association, 2021; Ashford, 2019).

- **Terapias no farmacológicas.** El pilar fundamental de estas es la prevención mediante la ejecución de diversos ejercicios que ayudan a mejorar las capacidades de memoria, cognitivas e incluso la realización de actividades cotidianas. Estos ejercicios pueden llevarse a cabo tanto en pacientes con EA como en sujetos cognitivamente sanos (Alzheimer's Association, 2021). Este tipo de terapias permiten la generación de mecanismos que ayudan a reducir el riesgo de sufrir la enfermedad o a ralentizar su avance, como es la reserva cognitiva (Stern, 2012).

Si bien cada vez van apareciendo un mayor número de terapias que ayudan a enfrentarse a la enfermedad, por el momento no existe un tratamiento realmente eficaz que combata a la EA, dejando en manos de la familia o de sus cuidadores que la calidad de vida del paciente se mantenga estable (Alzheimer's Association, 2021; Scheltens et al., 2016).

Capítulo 3

Electroencefalografía

3.1. Introducción a la electroencefalografía	16
3.2. Historia de la electroencefalografía	17
3.3. Neurofisiología	17
3.4. Ritmos cerebrales en el EEG	18
3.5. Registro del EEG	19
3.6. Alteraciones en la actividad electroencefalográfica debidas a la evolución de la demencia por la enfermedad de Alzheimer	20

3.1. Introducción a la electroencefalografía

La electroencefalografía es una técnica neurofisiológica que registra la actividad eléctrica cerebral colocando una serie de electrodos en el cuero cabelludo del sujeto a analizar. Es ampliamente utilizada en el campo de la investigación y en entornos clínicos dada su capacidad de ser fácilmente transportable, su bajo coste y su alta resolución temporal (Cohen, 2017; Mannan et al., 2018). Sin embargo, existen otras formas de obtener la señal eléctrica cerebral, como los *local field potentials (LFPs)* o EEG local, en la que la señal EEG se registra bastante cerca de las propias fuentes generadoras, y el electrocorticograma (ECoG), en la cual se obtiene esta actividad desde la superficie de la corteza cerebral (Buzsáki et al., 2012). Pero debido a que estas dos metodologías son invasivas, ya que se requiere de cirugía para introducir electrodos directamente en o sobre la corteza cerebral, son utilizadas en menor medida.

La actividad EEG registrada aparece debido a la generación de potenciales postsinápticos en millones de células piramidales en paralelo, siendo estos modelados mediante dipolos (Cohen, 2017; Song et al., 2015). El EEG obtiene la señal de campo eléctrico cortical con una mayor resolución temporal, del orden de milisegundos, que otras técnicas radiológicas como la PET o la MRI (Lioi et al., 2020). Sin embargo, su principal desventaja es su baja resolución espacial, que depende del número de electrodos que se estén empleando. Las configuraciones habituales más utilizadas son aquellas que poseen menos de 128 sensores como, por ejemplo, las de 19, 32 o 64 electrodos (Sanei and Chambers, 2007; Song et al., 2015). Otras de las limitaciones más importantes del EEG son su gran sensibilidad frente al ruido y su dependencia de las señales registradas con el tipo de referencia empleada, ya que al ser una medida referencial, se requiere un punto de referencia, como el lóbulo de la oreja o el mentón, entre otros (Sanei and Chambers, 2007).

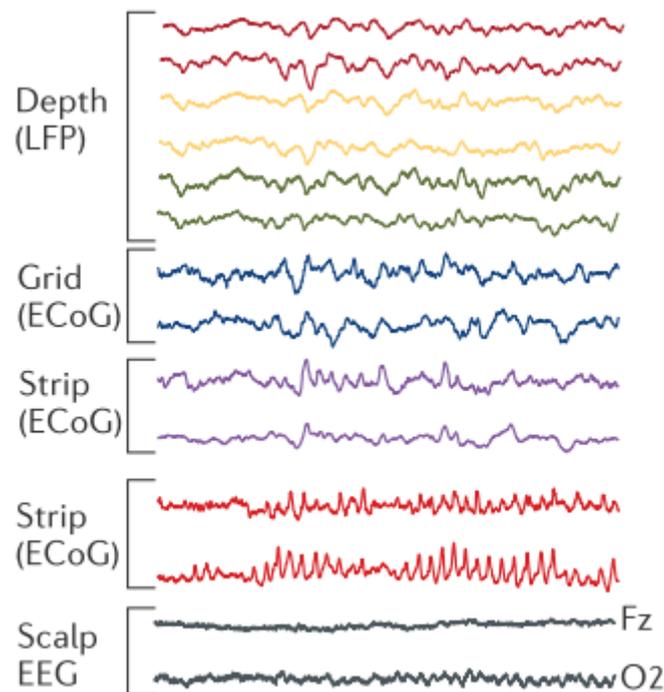


Figura 3.1. Diferentes tipos de registros de la actividad eléctrica cerebral (EEG superficial, ECoG y LFP). Imagen adaptada de (Buzsáki et al., 2012).

Son numerosos los estudios que han empleado registros EEG para analizar el efecto de diferentes patologías neurológicas o psiquiátricas, como demencia debida a EA, demencia de cuerpos de Lewy, esquizofrenia, enfermedad de Parkinson o epilepsia, para así poder mejorar el diagnóstico clínico de las mismas (Babiloni et al., 2018; Núñez et al., 2021).

3.2. Historia de la electroencefalografía

A finales del siglo XVIII, alrededor de 1770, el científico italiano Luigi Galvani publicó sus estudios sobre la actividad eléctrica en animales, desarrollando el término *actividad animal intrínseca* (Gil-Nagel et al., 2002). Más adelante, a mediados del siglo XIX, los científicos Carlo Matteucci y Emil Du Bois-Reymond fueron los primeros en registrar señales eléctricas emitidas por las células nerviosas musculares, estableciendo el concepto de neurofisiología. Este hecho fue posteriormente confirmado por Hermann Von Helmholtz (Sanei and Chambers, 2007). Posteriormente, en 1875, el investigador británico Richard Caton aplicó estos conceptos, utilizando esta metodología en el cuero cabelludo humano, y registrando por primera vez la actividad eléctrica cerebral, suponiendo que esta se daba por las corrientes iónicas generadas por la actividad neuronal (Gil-Nagel et al., 2002; Sanei and Chambers, 2007). Sin embargo, no fue hasta 1929 cuando el neurólogo alemán Hans Berger generó el primer registro de actividad eléctrica cerebral en humanos, utilizando un único canal bipolar, a lo cual acuñó con el término *electroencefalograma* (Figueroa-Duarte and Campbell-araujo, 2015; Sanei and Chambers, 2007). A partir de 1935, y gracias al trabajo de Hans Berger, se declaró que el EEG poseía un gran potencial en el campo de la psicología y la neurología (Cohen, 2017; Figueroa-Duarte and Campbell-araujo, 2015; Sanei and Chambers, 2007).

A día de hoy, los avances tecnológicos han permitido la implementación de nuevas técnicas fisiológicas y de neuroimagen, como el MEG, la fMRI o la PET. No obstante, a pesar de que estas técnicas pueden llegar a ofrecer unas mejores prestaciones, el EEG se mantiene como una de las técnicas más empleadas entre la comunidad científica (Cohen, 2017; Lioi et al., 2020).

3.3. Neurofisiología

La generación de los campos eléctricos registrados en el EEG es producto de la transmisión de señales electroquímicas, denominados potenciales postsinápticos, desde unas neuronas a otras. Los más comunes que se pueden encontrar son los potenciales postsinápticos excitadores e inhibidores, generados por neuronas piramidales orientadas perpendicularmente a la superficie cortical (Cohen, 2017; Gil-Nagel et al., 2002). Como no son señales de alta amplitud, se requiere de una transmisión sincronizada por parte de millones de neuronas en un espacio concreto y alineadas geoméricamente (Cohen, 2017; Gil-Nagel et al., 2002). Si esto ocurre, los campos eléctricos resultantes poseerán una mayor amplitud, suficiente para ser captada desde el exterior. A estos grupos neuronales se les denomina generadores (Cohen, 2017). Estas señales son, por tanto, el elemento fundamental de la actividad eléctrica cerebral (Gil-Nagel et al., 2002).

Para poder entender cómo funciona el cerebro a través de la actividad eléctrica que este genera se requiere conocer cuáles son las configuraciones anatómicas y funcionales de los microcircuitos neuronales que generan dichas diferencias de potencial, es decir, cómo interaccionan las distintas clases de células nerviosas, los microcircuitos que estas organizan y que generan las oscilaciones que se aprecian durante el registro del EEG (Cohen, 2017; Jafari et al., 2020). El fin último sería obtener esa iteración uno a uno entre la oscilación generada y el microcircuito que la ha originado,

pero esto es muy complejo, obteniendo dicha iteración entre grupos (Cohen, 2017). Además, debido a las diferentes permitividades eléctricas existentes en todos los tejidos de la cabeza, la señal registrada en el exterior no será exactamente igual a la original, apareciendo el denominado efecto de conducción de volumen (Cohen, 2017; Lioi et al., 2020). A pesar de que cada día este tipo de iteraciones se comprenden mejor y se proporciona una explicación más precisa, aún aparecen muchas incógnitas sobre las oscilaciones observadas en el EEG que han de ser resueltas (Cohen, 2017).

3.4. Ritmos cerebrales en el EEG

Las oscilaciones comentadas anteriormente también son conocidas como ritmos cerebrales, y son señales de actividad eléctrica cerebral separadas en rangos de frecuencias (Cohen, 2017). Los principales ritmos cerebrales que se pueden observar en un registro de EEG, los cuales pueden observarse en la figura 3.2, pueden clasificarse de menor a mayor frecuencia y son (Guevara Pérez et al., 2010; Jafari et al., 2020; Sanei and Chambers, 2007):

1. **Ritmos delta** (δ): se trata de las oscilaciones más lentas, con una frecuencia de hasta los 4 Hz. Están localizadas en las zonas frontal y parieto-occipital, y son los ritmos que poseen mayor amplitud, entre 100 y 200 μV . Aparecen en estados de sueño, sueño profundo e inconsciencia, y son predominantes en niños y adolescentes.
2. **Ritmos zeta** (θ): estas oscilaciones abarcan desde los 4 hasta los 8 Hz. Generadas en el tálamo, se presentan en niños en las zonas parietal y temporal, mientras que en adultos están

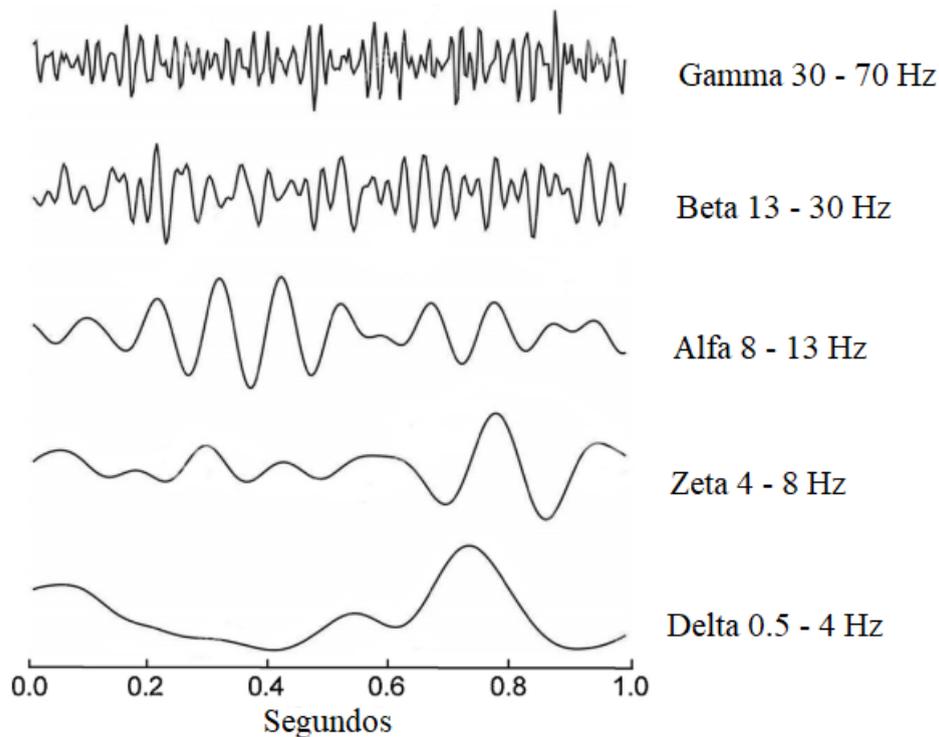


Figura 3.2. Ritmos cerebrales que pueden apreciarse en un registro de EEG. Imagen adaptada de (Jafari et al., 2020).

más presentes en la región occipital. Poseen una amplitud de unos $70 \mu\text{V}$, y se relacionan con estados de relajación y meditación.

3. **Ritmos alfa** (α): estas ondas poseen una frecuencia entre 8 y 13 Hz, y aparecen generalmente en la zona parieto-occipital. Dentro de las frecuencias que abarca esta banda de frecuencias, se encuentran los ritmos mu (μ), ampliamente utilizados en aplicaciones de *Brain Computer Interface*. Su amplitud casi alcanza los $50 \mu\text{V}$, y se puede observar en estados de relajación con los ojos cerrados.
4. **Ritmos beta** (β): son oscilaciones de baja amplitud, entre 20 y $30 \mu\text{V}$, con una frecuencia entre 13 y 30 Hz. Estas frecuencias pueden dividirse en dos, dando lugar a dos nuevas bandas de frecuencia: beta 1, entre 13 y 20 Hz, y beta 2, entre 20 y 30 Hz. Predominan en las zonas frontal y fronto-polar, y están relacionadas con estados de concentración y de atención. Se aprecian característicamente en la etapa adulta.
5. **Ritmos gamma** (γ): se trata de las oscilaciones que mayor frecuencia poseen, ocupando el rango del espectro a partir de los 30 Hz, aunque algunos autores limitan el estudio de esta banda a los 70 Hz. También son las ondas de menor amplitud, entre 10 y $20 \mu\text{V}$, predominando en las regiones frontal y central. Están asociadas a situaciones que impliquen un alto nivel de procesamiento de la información.

3.5. Registro del EEG

Se denomina registro de EEG a aquel procedimiento y método en el cual se obtiene la señal eléctrica generada por el cerebro. Para registrar dicha señal, se emplean una serie de electrodos colocados en el cuero cabelludo (Michel and Brunet, 2019; Song et al., 2015). El número de electrodos que se empleen determinará la resolución espacial, si bien el incremento del número de electrodos conlleva un incremento complementario de la carga computacional y del coste económico. El número de canales que se emplea mayoritariamente es 19, pero también se utilizan configuraciones con 32, 64, 128 o más (Michel and Brunet, 2019; Song et al., 2015). A la hora de distribuir los electrodos, existen numerosos sistemas de colocación, siendo los más destacados el sistema 10-10 y el sistema 10-20 (Gil-Nagel et al., 2002; Michel and Brunet, 2019; Song et al., 2015). Puede observarse la colocación de los electrodos según estos sistemas en la figura 3.3.

En este TFM se ha empleado una base de datos registrada mediante el Sistema Internacional 10-20, el cuál posee una nomenclatura de colocación de electrodos guiada a través de una línea imaginaria central que parte del inion (parte trasera de la cabeza) y acaba en el nasió (parte delantera de la cabeza). Por otro lado, los electrodos poseen una notación para ser nombrados, de tal manera que se emplea una letra mayúscula que simboliza la región cerebral sobre la que yace el canal, y un subíndice que representa sobre qué hemisferio cerebral está colocado dicho electrodo. De esta manera, podemos dividir a los electrodos en las regiones frontopolar (Fp), frontal (F), central (C), parietal (P), temporal (T) y occipital (O) (Sanei and Chambers, 2007; Sazgar and Young, 2019). Así pues, los subíndices pueden darse mediante números impares si el electrodo yace sobre el hemisferio izquierdo, números pares si se encuentra sobre el hemisferio derecho, o una z si el electrodo se encuentra sobre la línea central que une el inion con el nasió (Sanei and Chambers, 2007; Sazgar and Young, 2019).

La actividad eléctrica medida en las diferentes zonas cerebrales a partir de estos electrodos se determina como la diferencia de potencial entre dos electrodos o un electrodo y una referencia

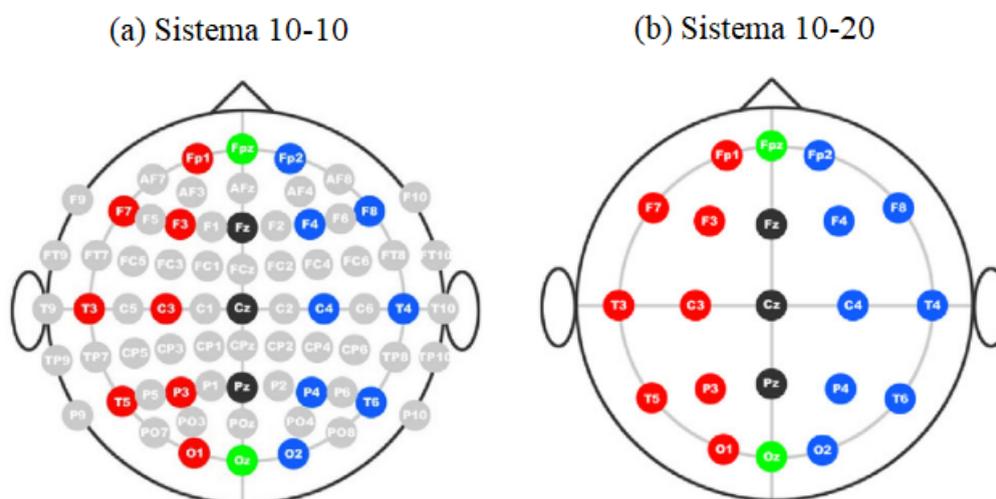


Figura 3.3. Sistemas 10-10 (a) y 10-20 (b) de colocación de electrodos. Imagen adaptada de (Song et al., 2015).

establecida. El canal empleado como referencia cumple una importante labor debido al carácter diferencial que posee el EEG (Sanei and Chambers, 2007; Sazgar and Young, 2019). Si se emplea una referencia común, el registro se denomina referencial, y típicamente esta referencia se toma en distintas zonas del cuerpo, como los lóbulos de las orejas o el vértice craneal a través del electrodo Cz. Por otro lado, si se miden las diferencias de potencial entre electrodos dos a dos, se denomina registro bipolar, comúnmente usado cuando el número de electrodos empleado es muy reducido (Sanei and Chambers, 2007; Sazgar and Young, 2019).

Una vez elegida la configuración de los electrodos, para realizar el registro EEG pueden emplearse diferentes paradigmas, entre los que destacan el registro basal y los potenciales evocados (Bachiller, 2012; Sanei and Chambers, 2007). El primero de ellos se realiza con el paciente relajado, generalmente con los ojos cerrados (Bachiller, 2012; Sanei and Chambers, 2007). El segundo se centra en el análisis de la actividad eléctrica cerebral cuando al paciente se le enfrenta a un estímulo. El marcador más analizado para este segundo caso es el P300, un pico de amplitud que se presenta en el EEG alrededor de 300 ms después de la aparición del estímulo (Bachiller, 2012; Sanei and Chambers, 2007).

3.6. Alteraciones en la actividad electroencefalográfica debidas a la evolución de la demencia por la enfermedad de Alzheimer

La demencia debida a la EA es una patología neurodegenerativa que produce alteraciones en los ritmos cerebrales que se registran en el EEG (Jafari et al., 2020). Es por ello que conocer cómo estas oscilaciones cambian con el progreso de la enfermedad es un aspecto clave en la búsqueda de nuevos biomarcadores que permitan la realización de un diagnóstico más precoz (Jafari et al., 2020; Maestú et al., 2019). Como se ha mencionado anteriormente, el bajo coste y la sencillez de uso del EEG ha permitido su implantación como una de las medidas más efectivas en entornos clínicos. Además, en los últimos años se ha investigado la existencia de diversos mecanismos patológicos de la demencia debida a la EA y cómo estos modulan la actividad EEG, permitiendo así observar cambios en los ritmos cerebrales de distinta índole que permiten dar una visión más

clara de la enfermedad (Jafari et al., 2020; Maestú et al., 2019). Estos efectos patológicos pueden englobarse en (Alzheimer's Association, 2021; Bairagi, 2018):

- Lentificación progresiva del espectro de la actividad EEG.
- Reducción de la complejidad y la irregularidad de las series temporales de los registros EEG.
- Disminución de la conectividad y la sincronización de los grupos neuronales.
- Alteración de las configuraciones de red establecidas entre los grupos de neuronas.

Entrando en detalle, la primera de ellas, la lentificación del espectro de la señal, es una de las alteraciones más evidentes y de las primeras que se observaron. Se presenta como una reducción de la potencia de las oscilaciones de mayor frecuencia y un incremento asociado en los ritmos de frecuencias bajas, como puede observarse en la figura 3.4, y parece estar relacionada con la puntuación obtenida por los pacientes en el test MMSE (Choi et al., 2019; D'Atri et al., 2021).

Entrando en profundidad, diversos estudios han analizado cómo estos ritmos cambian y qué regiones cerebrales parecen ser las más afectadas por estos cambios visibles a través de la actividad EEG. Por ello, hay estudios que han observado como la actividad en la banda zeta se incrementa de forma global a medida que la enfermedad progresa, mientras que la actividad asociada a bandas de alta frecuencia se ve reducida al mismo tiempo en las regiones temporales y parietales (Musaeus et al., 2018a,b). Por otra parte, diferentes estudios han empleado otras métricas que permiten extraer mayor información al espectro de la señal EEG, tales como la frecuencia alfa individual (IAF, *Individual Alpha Frequency*), la frecuencia de transición (TF, *Transition Frequency*) o diferentes ratios de potencias. Se observó que, tras obtener las bandas de frecuencia adaptadas utilizando la IAF y la TF, las potencias de la banda alfa en regiones posteriores del cerebro y de la banda delta de forma general se reducen en pacientes con DCL por EA (Babiloni et al., 2018). Además, utilizando el ratio $(\text{alfa}+\text{beta})/(\text{delta}+\text{zeta})$, se observa un cambio de tendencia de las bandas de mayor potencia a las de menor potencia (Benwell et al., 2020).

Si añadimos a este análisis el posible efecto que puede tener la información genética sobre la EA, encontramos diversos estudios que han analizado esta lentificación del espectro. Por ello, se ha observado que la potencia absoluta de la banda alfa 3 (11 - 13 Hz) es mayor en sujetos sanos con el alelo de riesgo del gen *CLU*, siendo esta potencia mayor en sujetos mayores de 50 años (Ponomareva et al., 2013). Por otro lado, la potencia relativa de la banda beta es mayor en controles en posesión del alelo de riesgo del gen *PICALM* (Ponomareva et al., 2017). Por último, se ha encontrado que los portadores de los alelos de riesgo de los genes *ILIRAP*, *UNC5C* y *NAV2* presentan un incremento en las potencias relativas de las bandas delta y zeta, y un decremento de las mismas en las bandas alfa y beta (Macedo et al., 2021).

Otra de las alteraciones características de la demencia debida a la EA en el EEG es la pérdida de complejidad e irregularidad de los registros (Bairagi, 2018). Enlazando esta alteración con la anterior, se ha demostrado la existencia de una correlación negativa entre la pérdida de complejidad e irregularidad y el incremento de la potencia relativa en las oscilaciones de menor frecuencia, así como una reducción de la complejidad e irregularidad significativa en pacientes con EA frente a sujetos de control, pero no entre pacientes con DCL por EA y sujetos de control (Dauwels et al., 2011). Este efecto ha sido analizado por diversos estudios, aplicando métricas de complejidad y entropía como la complejidad de Lempel-Ziv (*Lempel-Ziv Complexity*, LZC) y la entropía difusa (*Fuzzy Entropy*, FuzzyEn), observando que estas disminuyen significativamente en pacientes que

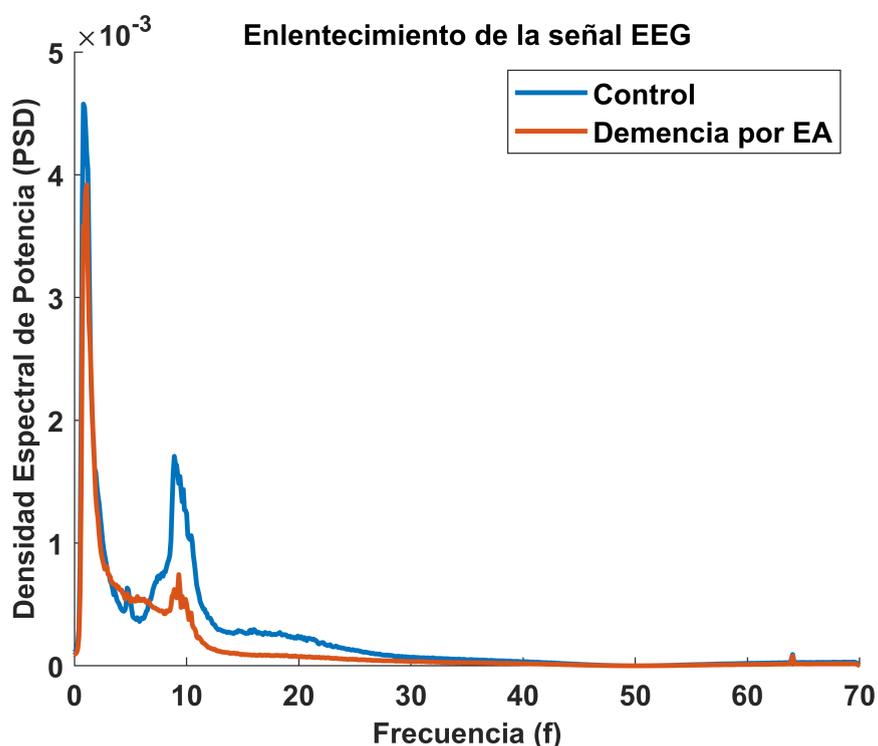


Figura 3.4. Densidad espectral de potencia (PSD) de sujetos de control (azul) y pacientes con demencia debida a la EA (rojo). Se aprecia que la potencia en las bandas de frecuencia bajas es mayor en los pacientes que en los sujetos de control, mientras que la potencia de las bandas de alta frecuencia es menor.

sufren demencia debida a la EA respecto a sujetos de control (Simons et al., 2018; Tait et al., 2020).

Añadiendo la información genética, un estudio previo analizó la complejidad de las señales EEG mediante la LZC en pacientes con DCL por EA, demencia por EA y sujetos de control, subdivididos por la presencia del alelo de riesgo del gen *APOE*. Se observó que los sujetos sanos portadores del alelo de riesgo presentan un incremento significativo de la complejidad frente a los sujetos de control no portadores en diversas regiones cerebrales, incluida la temporal izquierda (Gutiérrez-De Pablo et al., 2020).

En tercer lugar, otro efecto de la demencia por EA es una pérdida de sincronización de forma global, provocando una alteración de los patrones de conectividad entre las distintas regiones cerebrales (Bairagi, 2018). Es por ello que, como tónica general, se considera a la demencia por EA un síndrome de desconexión (Briels et al., 2020). Esto ha permitido la elaboración de múltiples estudios que aplican diferentes métricas para caracterizar la conectividad funcional cerebral durante el progreso de la EA. Estas métricas utilizadas parten de diferentes enfoques, y podemos encontrar medidas de coherencia, y también medidas derivadas del *phase lag index* (PLI) y la *amplitude envelope correlation* (AEC) (Briels et al., 2020; Ruiz-Gómez et al., 2019). Gracias a ello, se ha observado una reducción en la coherencia y la AEC para las bandas alfa y beta, y un incremento de la misma en la banda zeta (Briels et al., 2020; Núñez et al., 2019). A mayores, también se ha analizado la capacidad de estas métricas para obtener un mejor resultado, observando que el PLI se ve afectado en menor medida por los efectos de conducción de volumen que otras medidas (Ruiz-Gómez et al., 2019).

Añadiendo de nuevo la componente genética al análisis, se han realizado algunos estudios que analizan la conectividad funcional en pacientes con demencia por EA y sujetos de control. Por ejemplo, Ponomareva et al. (2020) analizó mediante la *lagged linear connectivity* (LLC) el efecto del alelo A del polimorfismo de nucleótido único (SNP) rs3851179 del gen *PICALM*, observando que los sujetos sanos portadores de dicho alelo poseen una mayor LLC interhemisférica de fuentes alfa, observando también una correlación entre esta medida con el tamaño del cuerpo caloso y la puntuación del test de memoria de Luria, interpretando que este alelo confiere cierta protección frente a este tipo de alteraciones de la EA.

Por último, la demencia por EA provoca una alteración en las topologías de las redes cerebrales, que también puede medirse a través de la actividad cerebral. Estos cambios pueden cuantificarse aplicando técnicas de teoría de grafos, como son la longitud de camino, el coeficiente de agrupamiento, el grado de red o el índice de *Small World*, entre otros (Rubinov and Sporns, 2010). Diversos estudios han llevado a cabo diferentes análisis empleando estas técnicas. Por ejemplo, se ha observado que la longitud de camino se incrementa y el coeficiente de agrupamiento disminuye a medida que la enfermedad avanza a estadios más severos (Chen et al., 2019; Si et al., 2019). Por otro lado, también se aprecia que los valores de *Small World* se reducen con el desarrollo de la enfermedad, lo que ha podido utilizarse como marcador para generar herramientas de clasificación, obteniendo precisiones de hasta un 95 % (Chen et al., 2019; Vecchio et al., 2020).

Añadiendo la información genética a las alteraciones sobre las topologías de red, encontramos el estudio de Vecchio et al. (2018), en el cual se utilizó el índice de *Small World* en conjunto con la presencia del alelo de riesgo del gen *APOE* para clasificar entre pacientes con DCL por EA y sujetos de control. Con este conjunto de datos, se obtuvieron una precisión del 91.7 %, una sensibilidad del 96.7 % y una especificidad del 86 %, lo que muestra que el hecho de incluir variables genéticas en estos análisis aporta más información y capacidad diagnóstica al estudio.

Como se ha podido comprobar, el EEG es una técnica ampliamente utilizada, con un gran auge en los últimos años (Dubois et al., 2016; Maestú et al., 2019). La inclusión de variables genéticas o de estilo de vida es cada vez mayor, ya que parecen afectar y ejercer como factores de riesgo para el desarrollo de esta patología (Alzheimer's Association, 2021).

Los artículos empleados en la presente discusión aparecen dispuestos en las tablas 3.1, 3.2 y 3.3.

ESTUDIO	SUJETOS	TÉCNICAS	RESULTADOS
(Babiloni et al., 2018)	83 (30 controles, 30 enfermos con DCL por EA, 23 enfermos con DCL por demencia de cuerpos de Lewy (DLB))	Potencia relativa y parámetros espectrales	A medida que la enfermedad progresa, los valores de IAF y TF disminuyen. Por otro lado, la potencia en la banda alfa disminuye con el progreso de la enfermedad. Por último, la potencia de la banda delta en las zonas frontal, parietal y temporal aumenta.
(Benwell et al., 2020)	72 (27 controles, 18 enfermos con DCL por EA, 27 pacientes con diabetes mellitus de tipo 2)	Ratio de potencia (alfa+beta)/(delta+zeta)	La demencia por EA provoca una reducción de la potencia en altas frecuencias y un incremento en las bandas de bajas frecuencias.
(Choi et al., 2019)	496 (162 sujetos con MMSE igual o superior a 28, 179 sujetos con MMSE entre 25 y 27, 155 sujetos con MMSE igual o inferior a 24)	Parámetros espectrales como la MF, la IAF y el ratio alfa/zeta	La puntuación del MMSE está correlada con los valores de las medidas, ya que se ven reducidos al avanzar la enfermedad.
(D'Atri et al., 2021)	150 (50 controles, 50 enfermos con DCL por EA, 50 enfermos con demencia por EA)	Potencia relativa en fases de sueño	Se observa la desaparición de cambios nocturnos en la actividad delta en DCL y demencia por EA, lo que indica una menor función restauradora del sueño de cara a la actividad diurna.
(Dauwels et al., 2011)	Dos bases de datos. 1ª) 81 (56 controles, 25 enfermos con DCL por EA). 2ª) 41 (24 controles, 17 enfermos con EA)	Potencia relativa	Con la aparición de la enfermedad, la potencia en las bandas alfa y beta se reduce, y se incrementa en las bandas delta y zeta.
(Musaev et al., 2018a)	372 (138 controles, 117 enfermos con DCL por EA, 117 enfermos de demencia por EA)	Potencia relativa	Se observa un incremento global de la potencia relativa de la banda zeta, y un decremento de la potencia de las altas frecuencias en enfermos de EA comparado con los controles. Este efecto se extiende a enfermos de DCL por EA.
(Musaev et al., 2018b)	82 (38 controles, 27 enfermos con DCL por EA, 17 enfermos con DCL por EA que progresan a demencia)	Potencia relativa	Se observa una reducción de la potencia relativa en la región parietal de la banda beta 1 para pacientes con DCL por EA que progresan a demencia por EA.

Tabla 3.1. Estudios analizados previamente (I)

ESTUDIO	SUJETOS	TÉCNICAS	RESULTADOS
(Macedo et al., 2021)	199 (45 controles, 45 enfermos con DCL por EA, 109 enfermos con demencia por EA)	Potencia relativa y genética	Se aprecia una reducción de la potencia relativa en la banda zeta para los portadores del alelo de riesgo de los genes <i>ILIRAP</i> , <i>UNC5C</i> y <i>NAV2</i> .
(Ponomareva et al., 2013)	87 controles	Potencia absoluta y genética	La presencia de la variante homocigótica <i>CC</i> del SNP rs1136000 del gen <i>CLU</i> en sujetos cognitivamente sanos confiere una mayor potencia absoluta en la banda alfa 3 (11-13 Hz), más pronunciada en sujetos mayores de 50 años.
(Ponomareva et al., 2017)	137 controles	Potencia relativa y genética	La presencia de la variante homocigótica <i>GG</i> del SNP rs3851179 del gen <i>PICALM</i> confiere un incremento de la potencia relativa de la banda beta, siendo este incremento más pronunciado en los sujetos más mayores.
(Simons et al., 2018)	22 (11 controles, 11 enfermos con demencia por EA)	Entropía difusa	El valor de la FuzzEn obtenido en pacientes con demencia por EA es menor que el obtenido en controles.
(Tait et al., 2020)	58 (26 controles, 7 enfermos de DCL por EA estables, 4 enfermos con DCL por EA que progresan a demencia, 21 enfermos con demencia por EA)	LZC en microestados	La transición entre microestados es más lenta y menos compleja en pacientes con demencia por EA. Añadiendo medidas espectrales, se obtiene un clasificador con sensibilidad y especificidad mayores al 80 %.
(Gutiérrez-De Pablo et al., 2020)	217 (46 controles, 49 enfermos con DCL por EA, 122 pacientes con demencia por EA)	LZC y genética	La complejidad es mayor en sujetos de control portadores del alelo de riesgo del gen <i>APOE</i> que en no portadores, sobre todo relevante en la región temporal izquierda.
(Briels et al., 2020)	Dos bases de datos. 1ª) 411 (197 pacientes con deterioro cognitivo subjetivo, 214 enfermos con demencia por EA). 2ª) 398 (202 deterioro cognitivo subjetivo, 196 enfermos con demencia por EA)	PLI y AEC	La AEC ortogonalizada muestra una reducción en las bandas alfa y beta. Además, la AEC ortogonalizada en la banda alfa está correlada con la severidad de la enfermedad, representada con el MMSE.

Tabla 3.2. Estudios analizados previamente (II)

ESTUDIO	SUJETOS	TÉCNICAS	RESULTADOS
(Ruiz-Gómez et al., 2019)	252 (51 controles, 51 enfermos con DCL por EA, 150 enfermos con demencia por EA)	Medidas de conectividad en señales sintéticas y EEG reales	La medida del PLI se muestra más robusta frente a efectos de conducción de volumen que el resto. Además, se produce un incremento de la conectividad en la banda zeta en los pacientes con DCL, incrementándose a medida que avanza la enfermedad, y reduciéndose la conectividad en la banda alfa en el último estadio de la enfermedad.
(Núñez et al., 2019)	132 (36 controles, 51 enfermos con DCL por EA, 45 enfermos con demencia por EA)	AEC	La AEC muestra una reducción significativa en las bandas alfa y beta en pacientes con demencia por EA.
(Ponomareva et al., 2020)	104 controles	LLC y genética	Los sujetos portadores del alelo A del SNP rs3851179 del gen <i>PICALM</i> muestran una mayor LLC global de las fuentes alfa en comparación con los no portadores.
(Chen et al., 2019)	84 (22 controles, 22 enfermos con demencia por EA, 22 con DLB, 22 enfermos de Parkinson)	Parámetros de teoría de grafos	Los valores de los coeficientes de <i>Small World</i> disminuyen a medida que la EA progresa. Además, los hubs cerebrales tienden a redistribuirse, apareciendo en mayor medida en el hemisferio derecho.
(Si et al., 2019)	147 (62 controles, 45 enfermos de DCL por EA estables, 40 enfermos con demencia por EA)	Análisis de métricas de teoría de grafos en redes sintéticas	El coeficiente de agrupamiento, la eficiencia local y global, y la transitividad disminuyen a medida que la EA progresa, mientras que la longitud de camino y la modularidad se ven incrementados.
(Vecchio et al., 2020)	295 (120 controles, 175 pacientes con demencia por EA)	LLC e índice de <i>Small World</i>	Se ha generado un clasificador basado en medidas de <i>Small World</i> , obteniendo una precisión del $95\% \pm 3\%$, una sensibilidad del $95\% \pm 5\%$, y una especificidad del $96\% \pm 3\%$.
(Vecchio et al., 2018)	145 (71 enfermos de DCL por EA que progresan a demencia, 74 enfermos con DCL por EA estables)	LLC, índice de <i>Small World</i> y genética	Utilizando el coeficiente de <i>Small World</i> y el genotipo del gen <i>APOE</i> , se obtiene un clasificador para diferenciar ambos grupos de DCL con una precisión del 91.7% , una sensibilidad del 96.7% , y una especificidad del 86% .

Tabla 3.3. Estudios analizados previamente (III)

Capítulo 4

Materiales y métodos

4.1. Introducción	28
4.2. Base de datos empleadas	28
4.2.1. Datos clínicos y sociodemográficos POCTEP	28
4.2.2. Datos clínicos y sociodemográficos HURH	29
4.2.3. Datos neurofisiológicos	29
4.2.4. Método de localización de fuentes: sLORETA	31
4.2.5. Información genética	32
4.3. Redes de asociación	33
4.3.1. Test chi-cuadrado	33
4.3.2. Parámetros implicados en el análisis	34
4.3.3. Homogeneización y normalización de variables neurofisiológicas	36
4.4. Imputación de datos faltantes	36
4.5. Análisis de la estabilidad de las redes	38

4.1. Introducción

En el presente TFM se han aplicado diferentes herramientas de procesado de señal. Este capítulo comienza con una descripción detallada de las bases de datos utilizadas para la realización de este TFM. Se explicará el proceso de obtención de las mismas y el filtrado de artefactos. Además, se mostrarán tanto datos clínicos como sociodemográficos y medidas de EEG (espectrales, no lineales, de conectividad y red) de los sujetos a los que se registró la actividad eléctrica cerebral. Por último, en esta primera mitad del capítulo se comentará el proceso de obtención de la información genética que se ha empleado en este estudio.

Posteriormente, en la segunda mitad de este capítulo, se detallarán los métodos empleados para analizar las bases de datos. Se comenzará con la explicación de las redes de asociación, un novedoso análisis en el que se basa este TFM. Posteriormente, se comentarán los parámetros extraídos de la actividad EEG, tales como parámetros espectrales, no lineales, de conectividad y de red, tanto a nivel de sensor como a nivel de fuentes cerebrales. A continuación, se procederá a explicar los métodos de normalización y homogeneización empleados, los cuales se han propuesto en este TFM, lo que supone otra novedad en el mismo. Por último, se describirá el método de imputación de datos faltantes, una forma alternativa para emplear aquellas entradas de la base de datos en las que faltan algunos datos, y así evitar descartar sujetos.

4.2. Base de datos empleadas

En este apartado se van a describir las bases de datos empleadas en este TFM, la primera compuesta por datos sociodemográficos, variables clínicas, datos neurofisiológicos e información genética, y la segunda por datos sociodemográficos, variables clínicas y datos neurofisiológicos.

4.2.1. Datos clínicos y sociodemográficos POCTEP

La base de datos empleada principalmente en este TFM está compuesta por 252 sujetos. Esta base de datos se ha construido gracias al proyecto internacional *Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer*, el cual está financiado por la *Comisión Europea - Programa de Cooperación Interreg V-A España - Portugal (POCTEP) 2014-2020*. Los 252 sujetos han sido divididos en tres grupos dependiendo del estadio de la enfermedad en el que se encuentren: 51 sujetos de control, 50 enfermos con DCL por EA y 150 enfermos con demencia por EA. Estos últimos han sido divididos a su vez en 3 grupos: 50 enfermos con EA leve, 50 enfermos con EA moderada, y 50 enfermos con EA severa. Las patologías analizadas fueron diagnosticadas de acuerdo a las recomendaciones del NIA-AA (Albert et al., 2011; McKhann et al., 2011). En las tablas 4.1 y 4.2 pueden observarse los datos clínicos y sociodemográficos completos de la base de datos empleada. Se obtuvieron diferencias significativas comparando la edad entre el grupo de pacientes con DCL y el resto de grupos (p -valor <0.05 , test U de Mann-Whitney). Por otro lado, se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a sexo entre controles y pacientes con DCL, EA moderada y EA severa; y entre pacientes con EA leve y pacientes con EA moderada y EA severa (p -valor <0.05 , test chi-cuadrado). Todos los participantes en el estudio o sus cuidadores dieron su consentimiento para participar en este estudio.

DATOS	SUJETOS		
	Controles	DCL	EA
Número sujetos	51	51	150
Edad (m[SD]) (años)	80.13 [7.09]	85.52 [7.25]	80.58 [7.58]
Género (H:M)	26:25	15:36	35:115
Nivel educativo (A:B)	36:15	43:8	134:16
MMSE (m[SD])	28.82 [1.13]	23.33 [2.84]	12.83 [8.75]

Tabla 4.1. Datos sociodemográficos y clínicos de la base de datos POCTEP. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (*standard deviation*).

DATOS	SUJETOS		
	EA leve	EA moderada	EA severa
Número sujetos	50	50	50
Edad (m[SD]) (años)	80.46 [6.93]	81.30 [8.04]	79.98 [7.82]
Género (H:M)	21:29	7:43	7:43
Nivel educativo (A:B)	41:9	43:7	50:0
MMSE (m[SD])	22.48 [2.29]	13.60 [2.76]	2.42 [3.70]

Tabla 4.2. Datos sociodemográficos y clínicos de los tres grupos de EA de la base de datos POCTEP. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (*standard deviation*).

4.2.2. Datos clínicos y sociodemográficos HURH

La base de datos registrada en el hospital universitario Río Hortega (HURH) de Valladolid, empleada para la replicación de las redes electrofisiológicas, está compuesta por 196 sujetos. Esta base de datos ha sido registrada gracias a la colaboración de los Servicios de Neurología y Neurofisiología del HURH. Los 196 sujetos han sido divididos en tres grupos dependiendo del estadio de la enfermedad en el que se encuentren: 45 sujetos de control, 69 enfermos con DCL por EA y 82 enfermos con demencia por EA. Estos últimos han sido divididos a su vez en 2 grupos: 55 enfermos con EA leve y 27 enfermos con EA moderada. Las patologías analizadas fueron diagnosticadas de acuerdo a las recomendaciones del NIA-AA (Albert et al., 2011; McKhann et al., 2011). Se realizó un análisis estadístico con la edad de cada grupo mediante el uso de la prueba U de Mann-Whitney, apreciando que no existen diferencias estadísticas entre grupos (p -valor $>$ 0.05). Posteriormente, se realizó el test Chi-Cuadrado para evaluar diferencias significativas respecto al sexo, en la que tampoco se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (p -valor $>$ 0.05). En las tablas 4.3 y 4.4 pueden observarse los datos clínicos y sociodemográficos completos de esta base de datos.

4.2.3. Datos neurofisiológicos

Los registros EEG se llevaron a cabo mediante el uso de un electroencefalógrafo digital Nihon Kohden Neurofax JE-921A EEG System de 19 electrodos (Fp1, Fp2, F3, F4, C3, C4, P3, P4, O1, O2, F7, F8, T3, T4, T5, T6, Fz, Cz y Pz del Sistema Internacional 10-20) en el caso de la base de datos del POCTEP, mientras que la base de datos del HURH se registró utilizando un sistema EEG XLTEK de Natus Medical de 19 canales. Para cada uno de los sujetos participantes, se realizó un registro de actividad basal de 5 minutos. Estos registros se llevaron a cabo mientras los sujetos permanecían sentados, relajados, despiertos y con los ojos cerrados para minimizar los artefactos

DATOS	SUJETOS		
	Controles	DCL	EA
Número sujetos	45	69	82
Edad (m[SD]) (años)	76.29 [3.97]	76.43 [6.47]	80.10 [5.60]
Género (H:M)	14:31	29:40	34:48
Nivel educativo (A:B)	17:28	43:26	60:22
MMSE (m[SD])	28.82 [1.15]	26.97 [1.86]	20.68 [3.89]

Tabla 4.3. Datos sociodemográficos y clínicos de la base de datos HURH. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (*standard deviation*).

DATOS	SUJETOS	
	EA leve	EA moderada
Número sujetos	55	27
Edad (m[SD]) (años)	79.68 [5.86]	80.97 [5.03]
Género (H:M)	26:29	8:19
Nivel educativo (A:B)	37:18	23:4
MMSE (m[SD])	22.98 [2.01]	16.00 [2.20]

Tabla 4.4. Datos sociodemográficos y clínicos de los 2 grupos de EA de la base de datos HURH. H: hombres; M: mujeres. A: educación primaria o inferior; B: estudios superiores. m: media; SD: desviación estándar (*standard deviation*).

tanto visuales como musculares. La frecuencia de muestreo empleada fue de 500 Hz en la base de datos del POCTEP y 200 Hz en la base de datos del HURH.

El preprocesado de los registros EEG se divide en las fases que se comentan a continuación (Gutiérrez-De Pablo et al., 2020; Ruiz-Gómez et al., 2019):

- i. Filtrado de las señales. En el paso inicial de este procesado se emplea un filtro FIR (*Finite Impulse Response*) paso banda entre 0.4 y 70 Hz de orden 2000 con ventana de Hamming para suprimir la mayor parte de la potencia de ruido y artefactos sin afectar negativamente a la parte de la señal que posee la información más importante. En la figura 4.1 se puede observar la representación gráfica de la respuesta al impulso de este filtro en cuestión. Posteriormente se aplicó un filtro FIR elimina banda entre 49.8 y 50.2 Hz con ventana de Hamming de orden 2000 para eliminar la componente eléctrica a 50 Hz. Puede observarse gráficamente la respuesta al impulso de este filtro elimina banda en la figura 4.2.
- ii. Supresión de componentes artefactuadas utilizando Análisis de Componentes Independientes (*Independent Component Analysis*, ICA). Esta metodología consiste en la separación de la señal EEG multivariante en componentes independientes asumiendo que esta señal posee independencia estadística y no sigue una distribución normal o gaussiana (Sanei and Chambers, 2007). De esta manera, este proceso permite separar en diversas componentes posibles artefactos no relacionados con la actividad eléctrica cerebral. Estos artefactos se identificaron de forma visual en cada una de las componentes y se eliminaron aquellas que tuvieran artefactos no correspondientes a la actividad eléctrica cerebral. A continuación, se reconstruyen los registros EEG. Se puede observar en la figura 4.3 una época de 5 segundos con artefactos en O1 y O2 (arriba) y la misma época con dichos artefactos eliminados para los mismo electrodos (abajo).

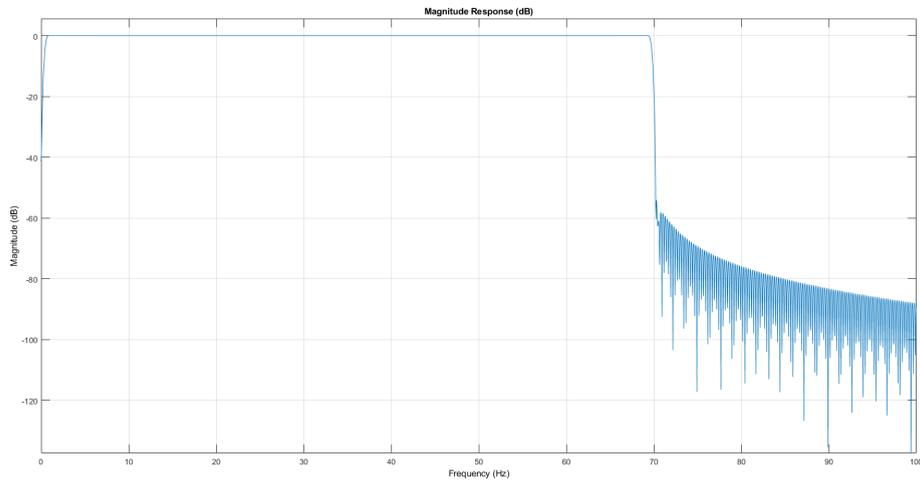


Figura 4.1. Respuesta al impulso del filtro FIR paso banda comprendido entre 0.4 y 70 Hz.

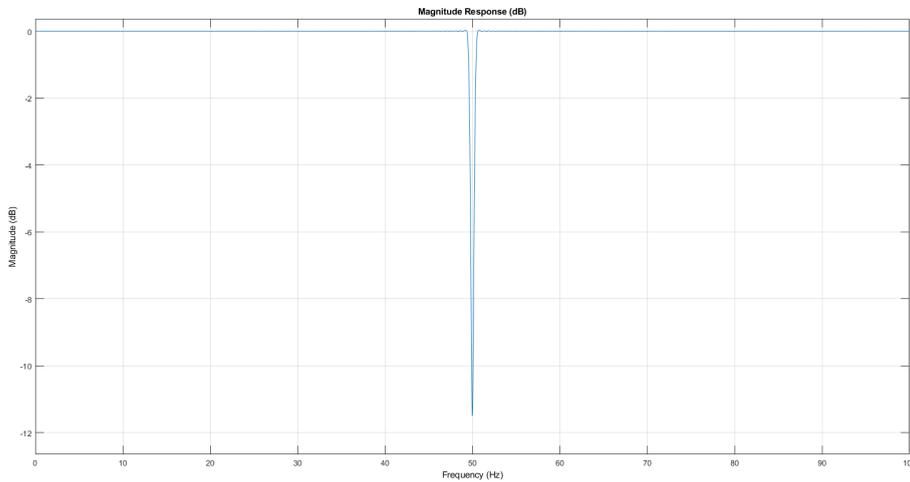


Figura 4.2. Respuesta al impulso del filtro FIR elimina banda comprendido entre 49.8 y 50.2 Hz.

- iii. Eliminación visual de artefactos en épocas de 5 segundos de las señales. Se analizan cada una de las épocas de manera visual. En el caso de identificar alguna que estuviese contaminada, se procede a eliminarla de los siguientes análisis.

4.2.4. Método de localización de fuentes: sLORETA

Debido a los efectos de conducción de volumen y la dispersión de la actividad cerebral, las señales registradas a nivel de sensor pueden sufrir distorsión (Song et al., 2015). Por ello, se recurre a diferentes métodos que permiten la estimación de la actividad eléctrica dada por los generadores neuronales originales, denominados fuentes cerebrales (Song et al., 2015). Existen diferentes métodos de localización de fuentes cerebrales, dependiendo del número de fuentes que se quiere estimar. En el caso de este TFM, se ha empleado el método *Standardized Low-Resolution Brain Electromagnetic Tomography* (sLORETA).

La principal ventaja que proporciona el método sLORETA es el número limitado de soluciones

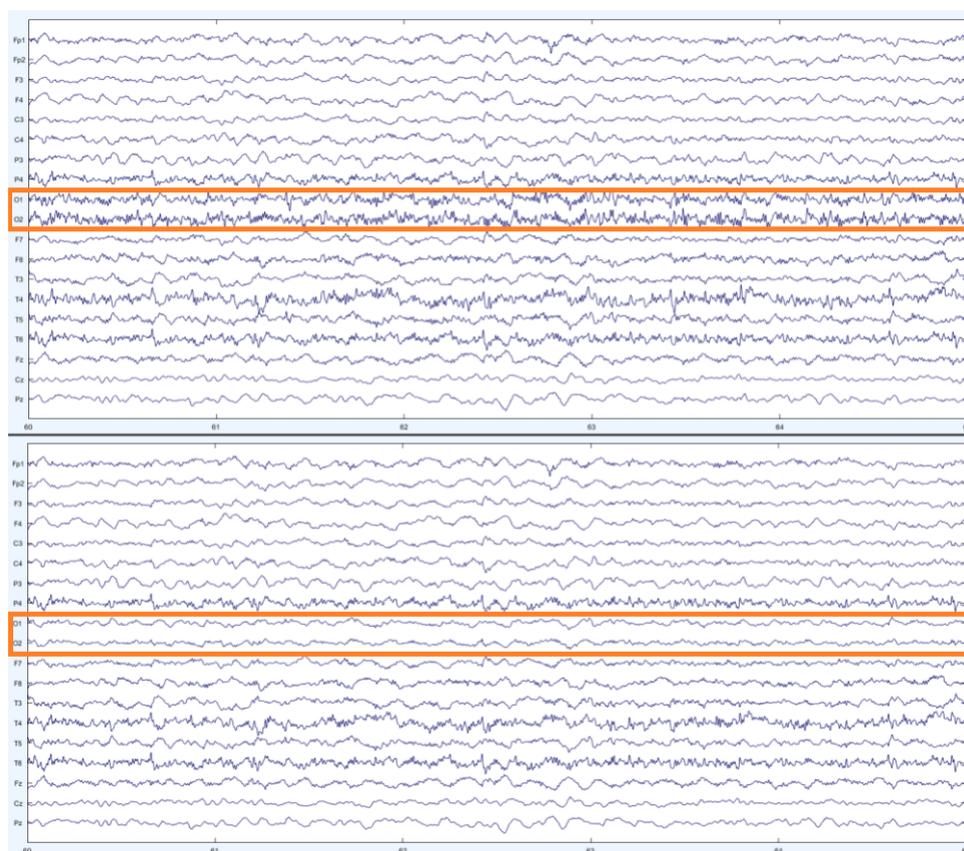


Figura 4.3. Época EEG seleccionando los electrodos O1 y O2 sin aplicar ICA (arriba) y con ICA aplicado (abajo). Imagen adaptada de (Rodríguez, 2018).

al problema de localización que se propone dada la sincronización existente entre grupos neuronales cercanos (Pascual-Marqui, 2002). Para poder ubicar las fuentes cerebrales es necesario utilizar una plantilla, que en este caso es la ICBM152 del Instituto Neurológico de Montreal, la cual se ha obtenido de un promedio de 152 resonancias magnéticas. A partir de esta plantilla empleada, se genera un modelo con 15000 fuentes proyectadas en 68 regiones corticales utilizando como modelo el atlas de Desikan-Killiany (Lai et al., 2018). Al final, las señales obtenidas a nivel de sensor se proyectan en 68 fuentes cerebrales, denominadas regiones de interés (ROIs, *regions of interest*).

4.2.5. Información genética

Para obtener la información genética de la base de datos del POCTEP, se llevó a cabo un análisis del genoma a partir de muestras de saliva recogidas de los pacientes mediante el kit *Oragene DNA* (OG-500) de la empresa DNA Genotek (Ottawa, Canadá). Sin embargo, este proceso no se podía llevar a cabo en los pacientes con EA más avanzada. En su caso, se emplearon bastoncillos de algodón esterilizado. Para analizar el ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de estas muestras, se emplearon el kit prepIT DNA de DNA Genotek para las muestras obtenidas con el kit OG-500, y el kit de extracción Citogene de Citomed (Odivelas, Portugal) para las muestras obtenidas con los bastoncillos de algodón. En todo momento se siguió el procedimiento indicado por el fabricante de estos kits. Por último, para obtener los alelos de cada SNP, se ha secuenciado el ADN por el método de Sanger.

Este análisis genético no pudo llevarse a cabo en todos los participantes, por lo que el número de sujetos con información genética es menor que el expuesto en apartados anteriores. Por ello, en apartados en los que solo se ha empleado información genética, se han empleado 194 sujetos, divididos en: 45 sujetos de control, 39 enfermos con DCL por EA, 46 enfermos con demencia leve por EA, 39 enfermos con demencia moderada por EA y 25 enfermos con demencia severa por EA. La base de datos del HURH no posee información genética, por lo que no se ha empleado en el análisis genético.

4.3. Redes de asociación

Las redes de asociación son la representación en forma de grafo de los factores incluidos en el análisis y su grado de asociación, construyéndose en base a las relaciones directas de estos factores (Borsboom et al., 2011). Según la teoría de grafos, podemos encontrarnos grafos binarios y grafos ponderados. Los primeros representan los diferentes factores como nodos y se muestran los enlaces como 1 si existe asociación, o 0 si no existe. En segundo lugar, los grafos ponderados muestran valores continuos para cada enlace, que dependiendo del parámetro utilizado puede tomar valores entre 0 y 1, o entre 0 y valores mayores (Rubinov and Sporns, 2010). Cuanto mayor sea este valor, mayor será la asociación entre los nodos. En el caso de este TFM, se ha utilizado un modelo que nace de la unión de los dos anteriores: grafos semiponderados. Este tipo de grafos se aplican cuando se quiere mostrar únicamente aquellas asociaciones estadísticamente significativas, generando una red binaria que muestre como 1 aquellas asociaciones que sean significativas, y como 0 el resto. Posteriormente, se sustituyen los valores multiplicando a toda la matriz binaria por la matriz de asociaciones, dejando los valores de asociación significativos y el resto como 0. Un ejemplo inicial de estas redes puede observarse en la figura 4.4, para así observar un ejemplo con la técnica más compleja en la figura 4.5.

Como medida para obtener el grado de asociación existente entre variables se ha empleado el test chi-cuadrado, el cual se comenta a continuación. Debido al cálculo de múltiples comparaciones, se ha aplicado corrección estadística a los p -valores mediante el método *False Discovery Rate* (FDR) de Storey (Storey, 2002). Por último, se categorizaron los datos continuos mediante deciles, es decir, dividiendo dichos datos en diez grupos y dándole valores respecto al valor máximo, de tal manera que valores más elevados de la métrica tendrán un valor categorizado más próximo al 10, mientras que valores más reducidos del parámetro tendrán tras la categorización valores más próximos al 1.

4.3.1. Test chi-cuadrado

El test chi-cuadrado (χ^2) es un test estadístico que proporciona una medida de asociación o no asociación. Este test se basa en el cálculo de la frecuencia de aparición esperada (Pandis, 2016). Dada una tabla, el cálculo de la frecuencia esperada de cada una de las celdas sería (Pandis, 2016):

$$Ef = \frac{TotalFila \cdot TotalColumna}{TotalTabla}, \quad (4.1)$$

donde *Total Fila* es el número de elementos de la fila a la que pertenece la celda, *Total Columna* es el número de elementos de la columna a la que pertenece la celda, y *Total Tabla* es el número de elementos totales en la tabla. Esta ecuación es independiente del número de filas y columnas de la tabla.

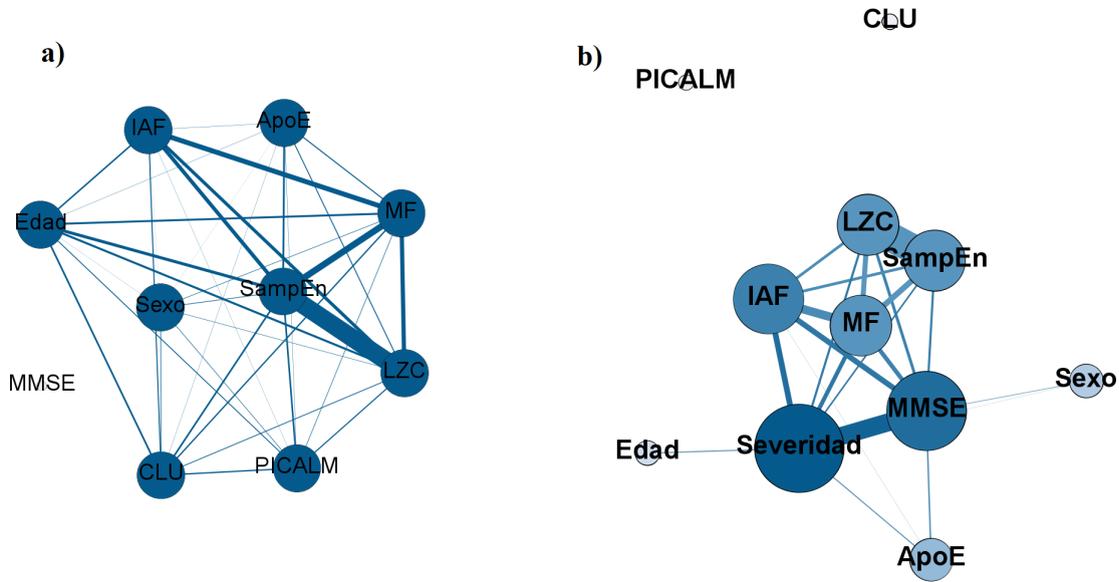


Figura 4.4. Ejemplo de redes de asociación generadas inicialmente. (a) Red mediante el algoritmo Fruchterman-Reingold; (b) red mediante el algoritmo Force Atlas 2. Los diferentes tonos de azul y el tamaño de los nodos representan el grado de cada nodo. Cuanto más grande y oscuro sea el nodo, mayor es el grado de nodo. El grosor de los enlaces representa el valor de la asociación entre variables, cuanto mayor sea este valor, mayor es el grosor del enlace.

El siguiente paso del método es decidir si se puede rechazar la hipótesis nula de que no hay asociación entre las variables. Para ello, se compara cuánto se desvían las frecuencias observadas y las frecuencias esperadas (Pandis, 2016). La ecuación que rige a este estadístico es la siguiente (Pandis, 2016):

$$\chi^2 = \sum \frac{(Of - Ef)^2}{Ef}, \quad (4.2)$$

donde Of es el valor de la frecuencia observada, y Ef es el valor de la frecuencia esperada. El valor del estadístico hace la suma de todos los valores obtenidos para cada una de las celdas de la tabla. A partir del valor obtenido, se pueden definir dos caminos. Si el valor del estadístico es elevado, significa que hay grandes diferencias entre las frecuencias observadas y las esperadas, con lo que se podrá rechazar la hipótesis nula. Si el valor, por otro lado, es pequeño, no existirán diferencias significativas, aceptando la hipótesis nula (Pandis, 2016). Una vez obtenido el valor del estadístico, se necesita calcular el número de grados de libertad para obtener el p -valor asociado. El número de grados de libertad se obtiene (Pandis, 2016):

$$gl = (nFilas - 1) \cdot (nColumnas - 1), \quad (4.3)$$

donde $nFilas$ y $nColumnas$ es el número de filas y columnas de la tabla, respectivamente.

4.3.2. Parámetros implicados en el análisis

Para realizar las redes de asociación, se han empleado diferentes parámetros de la base de datos, entre los cuales se pueden encontrar:

- **Datos sociodemográficos.** Representan los datos propios de los sujetos, tales como la edad y el sexo, ya que son dos de los principales factores de riesgo de la EA (Livingston et al.,

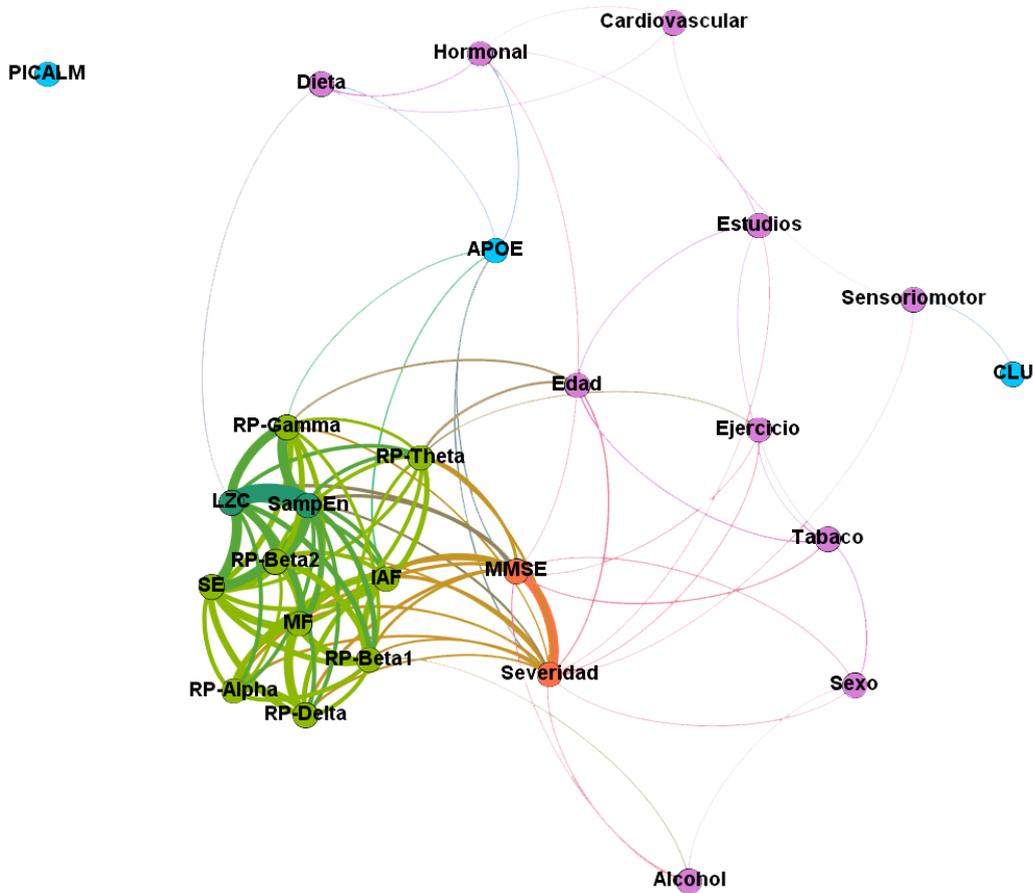


Figura 4.5. Ejemplo de red de asociación mediante el algoritmo Force Atlas 2, en la cual la técnica se ha depurado, pudiendo utilizarse para exponer resultados. En esta red se pueden observar datos sociodemográficos (violeta), información clínica (naranja), medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), e información genética (cian). El grosor del enlace representa el valor de asociación entre variables, cuanto mayor sea dicho valor, el grosor será mayor.

2020). También se han empleado datos sobre la vida diaria de los sujetos, como la dieta que siguen, el ejercicio físico que realizan, y el nivel de estudios que poseen, ya que se cree que un mayor nivel de estudios genera cierta capacidad de resiliencia denominada reserva cognitiva (Stern, 2012). Por último, también se han añadido factores de comorbilidad de la EA, como patologías cardíacas, hormonales o sensoriomotoras.

- **Información clínica.** Aportan datos sobre la patología de cada control o de cada paciente, como la severidad de la enfermedad, o la puntuación obtenida en diferentes test clínicos que abordan cognición, memoria, funcionalidad, etc. Dentro de este aspecto se encuentra el test MMSE.
- **Parámetros extraídos del EEG.** La actividad eléctrica cerebral proporciona una cantidad de información elevada, pudiéndose analizar desde diferentes puntos de vista. Como se ha comentado en el capítulo 3, esta señal puede analizarse a través del espectro de la misma para medir el enlentecimiento que la EA provoca mediante medidas espectrales: potencia relativa (RP), MF, IAF, TF, entropía espectral (SE, *spectral entropy*), entropía de Tsallis, en-

tropía de Escort-Tsallis, entropía de Rényi o frecuencia del límite espectral del 95 % (SEF95, *95 % spectral edge frequency*) (Babiloni et al., 2018; Poza et al., 2007, 2008). También se puede utilizar la señal EEG para analizar el comportamiento dinámico neuronal y como este se altera con la EA mediante el uso de medidas no lineales: LZC, entropía muestral (SampEn, *sample entropy*), FuzzyEn, medida de tendencia central (CTM, *central tendency measure*), auto-información mutua (AMI, *auto-mutual information*), entropía aproximada (ApEn, *approximate entropy*) (Abásolo et al., 2006; Escudero et al., 2006; Gutiérrez-De Pablo et al., 2020; Poza et al., 2012). En tercer lugar, la conectividad entre diferentes grupos neuronales también se ve alterada, pudiéndose observar estos cambios con medidas de conectividad del índice del retardo de fase (PLI, *phase lagged index*), la correlación de la amplitud de la envolvente (AEC, *amplitude envelope correlation*), y otras medidas derivadas de estas para medir la dinámica de red en todos sus niveles, como el grado ponderado superpuesto (OWD, *overlapping weighted degree*) o la participación (Núñez et al., 2019; Ruiz-Gómez et al., 2019; Yu et al., 2017). Por último, también se pueden observar cambios de la topología de red cerebral, mediante técnicas de la teoría de grafos extraídas a través de la conectividad: coeficiente de agrupamiento (CIC, *clustering coefficient*), grado de red (G, *graph degree*), longitud de camino (PL, *path length*), *closeness centrality* (CC), entropía de grafo (GE, *graph entropy*), densidad global (DenGlobal), *small world index* (SW), *TAS complexity* o *average dwell time* (Chen et al., 2019; de Haan et al., 2009; Núñez et al., 2021; Si et al., 2019).

- **Información genética.** Diferentes estudios han analizado la influencia de determinados genes sobre el desarrollo de la EA, observando que determinados alelos parecen ejercer un riesgo a la hora de desarrollar la enfermedad o de que esta avance. Genes como *APOE*, *PI-CALM* o *CLU* se han incluido en este TFM (Bettens et al., 2013; Karch and Goate, 2015; Macedo et al., 2021).

4.3.3. Homogeneización y normalización de variables neurofisiológicas

Otra novedad presente en este TFM es la implementación de un nuevo método de homogeneización de variables, que nos permita unificar el análisis entre grupos de estas e incluso unificar bases de datos que hayan podido registrarse de maneras diversas o con equipos diferentes. La ecuación que implementa este método es la siguiente:

$$M_h = \frac{M_g - \hat{M}_c}{SD_c}, \quad (4.4)$$

donde M_g es el valor para un sujeto de la medida que se esté homogeneizando, \hat{M}_c es el valor de la mediana de la medida que se está homogeneizando del grupo de controles de la base de datos correspondiente, y SD_c es la desviación típica de la medida para ese grupo de controles.

Para las medidas no lineales, utilizadas para estudiar las características dinámicas de la actividad cerebral, se aplica un paso previo de normalización, empleando ruido blanco para ello. Se emplea este tipo de ruido ya que son señales que poseen una complejidad y entropía máximas, sirviendo como referencia para la normalización.

4.4. Imputación de datos faltantes

La existencia de datos faltantes en las bases de datos está presente constantemente en el campo de la investigación clínica (Pedersen et al., 2017). Esta ausencia de datos, independientemente del

motivo por el cual se dé, implica una pérdida de información que puede ser relevante en la elaboración del estudio correspondiente debido a que, generalmente, aquellos sujetos que presenten algún dato faltante suele eliminarse del análisis (Pedersen et al., 2017). Los motivos por los que puede darse esta ausencia son diversos, desde la imposibilidad de poder realizar las diferentes mediciones al paciente hasta fallos en la toma de estos datos (Pedersen et al., 2017).

Dependiendo de cómo aparezcan esta ausencia de datos, la información faltante puede dividirse en tres grupos (Pedersen et al., 2017; Sterne et al., 2009):

- ***Missing completely at random (MCAR)***. Cuando los sujetos que poseen los datos faltantes son aleatorios, es decir, forman un conjunto aleatorio debido a factores externos a la base de datos, se considera que estos datos son MCAR. Como ejemplo, este tipo de configuración de los datos se puede dar cuando, debido al mal funcionamiento del equipo con el que se realizan los análisis, los pacientes no pueden someterse a la prueba, dejando sin esa información a la base de datos.
- ***Missing at random (MAR)***. Cuando los datos se omiten o faltan debido a otras variables distintas a la observación principal, estos se consideran dentro del grupo MAR. Es decir, la probabilidad de que un dato falte en una variable está relacionada con otras variables existentes dentro de la base de datos. Por ejemplo, es más probable que la información genética de pacientes con un nivel de neurodegeneración elevado tenga más valores faltantes.
- ***Missing not at random (MNAR)***. Cuando la probabilidad de ausencia de los datos está relacionada con la propia variable que posee dicha ausencia, estos datos se engloban en el grupo MNAR. Por ejemplo, en un estudio que analiza el grado de ejecución de un trabajo, si antes de realizar la evaluación se desestima a varios sujetos por bajo rendimiento, esta ausencia de datos depende de la propia variable que se quiere medir, que es el rendimiento en el trabajo.

Para abordar esta ausencia de datos, se han desarrollado diferentes métodos de imputación de datos faltantes: análisis de casos completos, indicador de ausencia, imputación simple, análisis de sensibilidad del mejor y peor caso, e imputación múltiple (Pedersen et al., 2017). El primero de ellos es el más simple y el que generalmente más se emplea, y se basa en la eliminación de aquellos sujetos que no posean todos los datos requeridos. Es por ello que también se le denomina eliminación por lista (Pedersen et al., 2017). En segundo lugar, en el método de indicador de ausencia se genera una nueva variable que indica qué sujetos no poseen todos los datos cuando los datos presentes son continuos o, en el caso de tener datos de tipo categórico, se incrementa el número de categorías, añadiendo un nuevo valor para representar a los datos ausentes (Pedersen et al., 2017). En tercer lugar, el método de imputación simple se basa en la sustitución de los valores ausentes por un valor obtenido a partir de los existentes, como es la media o la moda de los datos pertenecientes a la variable (Pedersen et al., 2017). El siguiente método, el análisis de sensibilidad del mejor y peor caso, sustituye los valores ausentes por el mejor y peor valor de la variable, pudiendo ser, por ejemplo, los valores máximos y mínimos, o en casos longitudinales, el día de inicio del tratamiento y la fecha de recuperación o fallecimiento del paciente (Pedersen et al., 2017). Por último, la imputación múltiple permite obtener valores más exactos, particularizados a cada medida, en función del resto de valores disponibles en la base de datos. Este es uno de los métodos en auge, gracias al aumento en la capacidad computacional de los equipos actuales (Pedersen et al., 2017).

Todos estos métodos poseen ventajas y desventajas que se han de evaluar para poder elegir el método más adecuado. En el presente TFM se ha empleado el paquete MICE de R, que implementa un método de imputación de datos faltantes por imputación múltiple (Van Buuren and Groothuis-Oudshoorn, 2011). Este algoritmo se emplea siguiendo tres premisas sobre el modelo de los datos (Van Buuren and Groothuis-Oudshoorn, 2011): (i) se debe tener en cuenta el proceso que ha generado los datos ausentes; (ii) se debe preservar las relaciones existentes entre los datos; y (iii) se debe preservar la incertidumbre del porqué de esas relaciones. Es importante también el número de imputaciones que se deben emplear para obtener unos valores adecuados y que estas imputaciones converjan. Generalmente, algunos autores recomendaban utilizar entre 10 y 20 iteraciones para conseguir esta convergencia, pero utilizando entre 5 y 10 se comienzan a obtener buenos resultados (Van Buuren and Groothuis-Oudshoorn, 2011). En el caso de este TFM, se han empleado 8 iteraciones con 8 imputaciones. En la figura 4.6 puede observarse una imagen realizada por el algoritmo del software R en el que se resume la información sobre los datos faltantes de uno de los casos abordados en este TFM. En la figura 4.7 puede observarse la densidad de las estimaciones en comparación con la densidad de las variables inicialmente, viendo que se ha obtenido una estimación bastante precisa.

4.5. Análisis de la estabilidad de las redes

Por último, se ha procedido a examinar el grado de robustez que presentan las redes obtenidas comparando la similitud entre la red obtenida y ella misma pero obtenida en otras muestras. Para ello, se ha empleado *bootstrap*, que permite la generación de instancias de la red barajando alea-

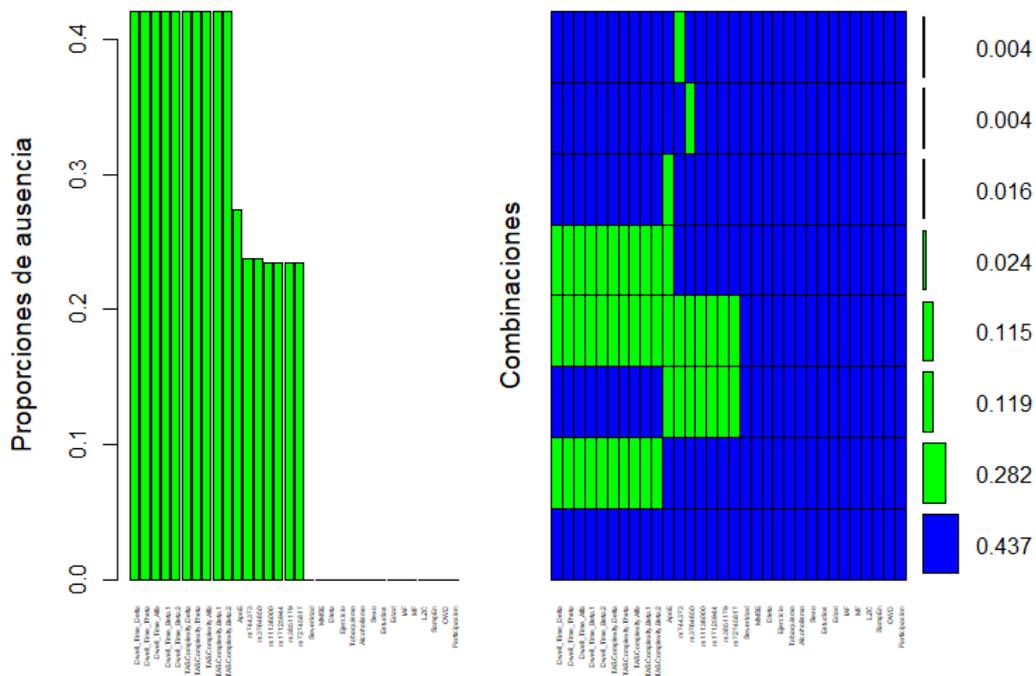


Figura 4.6. Resumen de imputación para una de las redes realizadas. La figura de la izquierda representa la proporción de datos (sobre 1) que faltan en cada variable. La figura de la derecha indica qué proporción de datos (sobre 1) están ausentes de manera simultánea en diferentes variables para un sujeto.

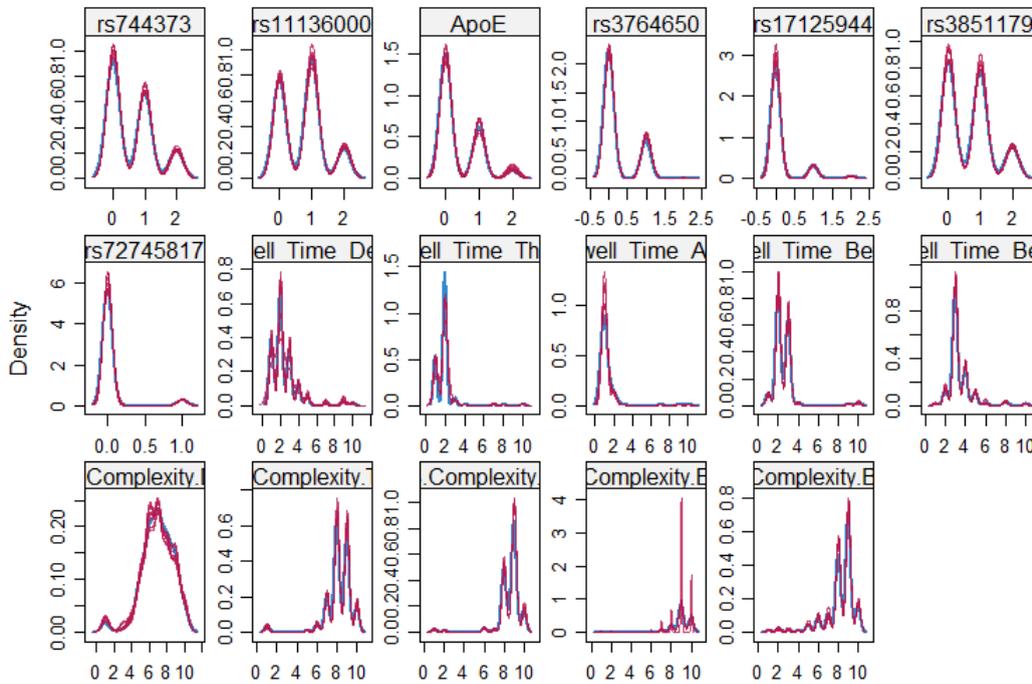


Figura 4.7. Representación gráfica de la densidad de probabilidad de los diferentes valores de las variables con datos faltantes inicialmente (azul) y la densidad de probabilidad de las estimaciones de dichos datos (rojo). El eje de abscisas indica el rango de valores que puede tomar dicha variable, y el eje de ordenadas representa el valor de densidad de probabilidad de los valores de las variables.

toriamente los valores de las variables (Jimeno et al., 2020). Este proceso se lleva a cabo con 1000 repeticiones para las redes globales y 250 repeticiones para las redes electrofisiológicas y genéticas debido al número de variables que conllevan, añadiendo también el intervalo de confianza del 95 % de la medida obtenida.

Para mostrar la representación, cada línea horizontal representa el valor de asociación entre dos variables. Se aplicó también una ordenación ascendente, de tal manera que los valores que mayor asociación estarán más arriba en la figura. Si el valor o el intervalo de confianza del 95 % toca al 0, esos valores entonces no son estadísticamente significativos, dando a entender que se trataría de una asociación puramente aleatoria. En la figura 4.8 se puede apreciar un ejemplo de estas gráficas de estabilidad de red.

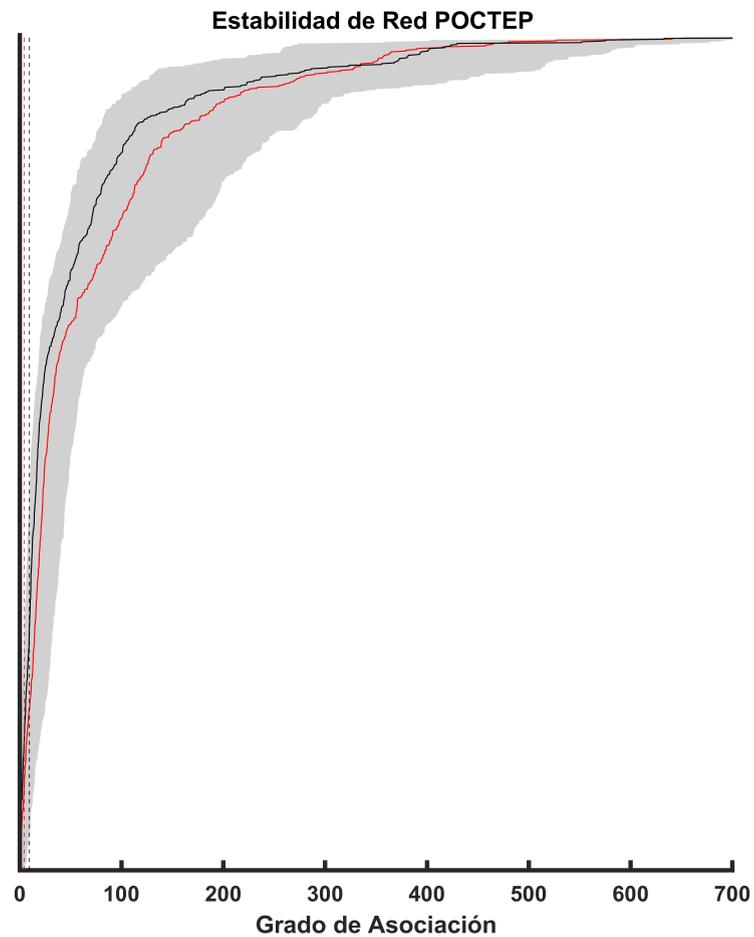


Figura 4.8. Ejemplo de gráfica de estabilidad de red. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

Capítulo 5

Resultados

5.1. Introducción	42
5.2. Redes electrofisiológicas	42
5.2.1. Base de datos POCTEP	42
5.2.2. Estabilidad de las redes POCTEP	49
5.2.3. Base de datos HURH	52
5.2.4. Estabilidad de las redes HURH	57
5.3. Redes genéticas	59
5.3.1. Estabilidad de red	61
5.4. Redes globales	65
5.4.1. Estabilidad de red	68

5.1. Introducción

Habiendo introducido la metodología empleada en la elaboración del presente TFM, en este capítulo se muestran los resultados obtenidos, divididos en diferentes apartados. En primer lugar, se ha analizado las redes de cada grupo de severidad formada por diferentes medidas extraídas del EEG, ya sean espectrales, no lineales, de conectividad y dinámica, y de red y teoría de grafos. Este análisis se ha llevado a cabo con la base de datos especificada en el capítulo 4 y, posteriormente, se realizará este análisis en otra base de datos para observar si los resultados son replicados. En segundo lugar, se analizarán las redes uniendo todos los tipos de factores especificados en el capítulo 4, pero utilizando un menor número de nodos. Por último, se ha generado una red por grupo de severidad con la información genética disponible en la base de datos especificada en el capítulo 4.

5.2. Redes electrofisiológicas

En primer lugar, se ha comenzado analizando el grado de asociación entre las diferentes medidas extraídas de la actividad eléctrica cerebral a nivel de fuentes cerebrales, para cada una de las 68 ROIs obtenidas, a excepción de las medidas de red y de teoría de grafos que son promediadas. En este caso, se han utilizado:

- **Medidas espectrales.** RP en delta, zeta, alfa, beta 1, beta 2 y gamma; MF, TF, IAF, SEF95, SE, entropía de Tsallis, entropía de Escort-Tsallis y entropía de Rényi.
- **Medidas no lineales.** SampEn, LZC, FuzzyEn, CTM, AMI y ApEn.
- **Medidas de conectividad.** PLI y AEC, ambas para las bandas delta, zeta, alfa, beta 1, beta 2 y gamma.
- **Medidas de red y de teoría de grafos.** CIC, G, PL, CC, GE, densidad global y SW.

Debido al elevado número de nodos, solo se han mostrado aquellas asociaciones con un valor igual o superior a 0.8 por el valor máximo del estadístico chi-cuadrado obtenido en cada una de las redes para los diferentes grupos. En la figura 5.19 aparece un resumen de las redes electrofisiológicas obtenidas, mostrando cómo la EA modifica los patrones de organización de estas a medida que la enfermedad avanza.

5.2.1. Base de datos POCTEP

En este subapartado se comentan las redes electrofisiológicas obtenidas con la base de datos principal, que consta de los registros del proyecto POCTEP.

En la figura 5.1 se puede observar la red generada para el grupo de controles, en la cual se pueden observar las medidas espectrales en verde, las no lineales en azul, las medidas de conectividad en amarillo, y las de red en color rojo. En ella se aprecia que las medidas están muy conectadas entre sí, viendo que las que aparecen más separadas pertenecen a bandas distintas. Resaltan las medidas no lineales, ya que se encuentran conectadas sobre todo a las medidas espectrales pero no están condensadas en un clúster, sino que sus nodos se muestran dispersos sin ninguna organización.

Si ahora se observa la figura 5.2, correspondiente a los pacientes con DCL por EA, se aprecia que las medidas espectrales se han separado espacialmente de las medidas de conectividad y red, apareciendo una dispersión entre los factores que miden sincronización local de aquellos que simbolizan la sincronización global. Además, se sigue apreciando cierta dispersión dentro de cada tipo de variable, debido a la obtención de las medidas por bandas de frecuencia y por ROIs. Por otro lado, las medidas no lineales comienzan a comprimirse espacialmente, formando un clúster encima de las medidas espectrales.

Pasando a los estadios de la demencia por EA, la figura 5.3 muestra la red de medidas extraídas de la actividad EEG para los pacientes con demencia leve por EA. Es en este punto en el que se rompe la tendencia, ya que las medidas espectrales y las medidas de conectividad y red vuelven a juntarse de nuevo, si bien el efecto de la separación por bandas disminuye, ya que los nodos del mismo tipo de medidas están más próximos. Por último, se aprecia que las medidas no lineales mantienen su tendencia y siguen comprimiéndose, formando un clúster de mayor tamaño.

En el caso de la EA moderada, que se puede apreciar en la figura 5.4, comienzan a diferenciarse regiones en las que aparecen las diferentes medidas como, por ejemplo, las espectrales en la zona inferior izquierda; las medidas no lineales en el extremo izquierdo, muy próximas a las medidas espectrales; y las medidas de conectividad y red en el extremo derecho. Se puede observar que, con respecto al caso de la EA leve, las diferentes medidas se encuentran más dispersas, exceptuando las medidas no lineales, que continúan su compresión en un único clúster.

Por último, para los pacientes con demencia severa por EA, la última fase de la enfermedad, la red muestra claramente el fin de la tendencia que se podía ir observando en las fases anteriores de la enfermedad, la EA leve y moderada. En esta red, que se puede apreciar en la figura 5.5, se ve claramente la división entre los diferentes clústeres de cada medida: espectrales en la región inferior izquierda, no lineales en la zona superior izquierda, próximas a las medidas espectrales; y en la parte derecha de la red aparecen las medidas de conectividad y red, más dispersas que los otros dos grandes clústeres. Este espacio existente entre las medidas espectrales y no lineales, y las de conectividad y red aparece con numerosas conexiones entre ellos, pero se aprecia una clara separación entre ellas.

Se puede observar, por tanto, que existe una tendencia en estas redes en la que cada tipo de medida se organiza y estructura en un propio clúster, pero entre ellas esta estructura se pierde, es decir, aparece una desorganización entre aquellas medidas que cuantifican la dinámica y sincronización local de aquellas que representan la sincronización global cerebral. Por otro lado, las medidas de red están muy asociadas a las medidas de conectividad, ya que permiten definir de una manera global las propiedades características de las diferentes estructuras de red funcionales en las que se organiza el cerebro bajo diferentes procesos cognitivos. Estas configuraciones de red están representadas por los valores de conectividad entre las diferentes ROIs. Es por ello que las medidas de conectividad y red muestran grandes asociaciones entre sí. Observando los valores de la tabla 5.1, se pueden apreciar los valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento de estas redes, observando como los valores de la primera medida decrecen desde los controles hasta la demencia leve por EA para, posteriormente, volver a incrementarse para la demencia moderada por EA y, por último, obtener el valor más bajo de modularidad de los 5 grupos en los pacientes con demencia severa por EA. Esta tendencia es semejante para el coeficiente de agrupamiento, si bien el valor de este coeficiente para los pacientes con demencia severa por EA es mayor que en el estadio anterior.

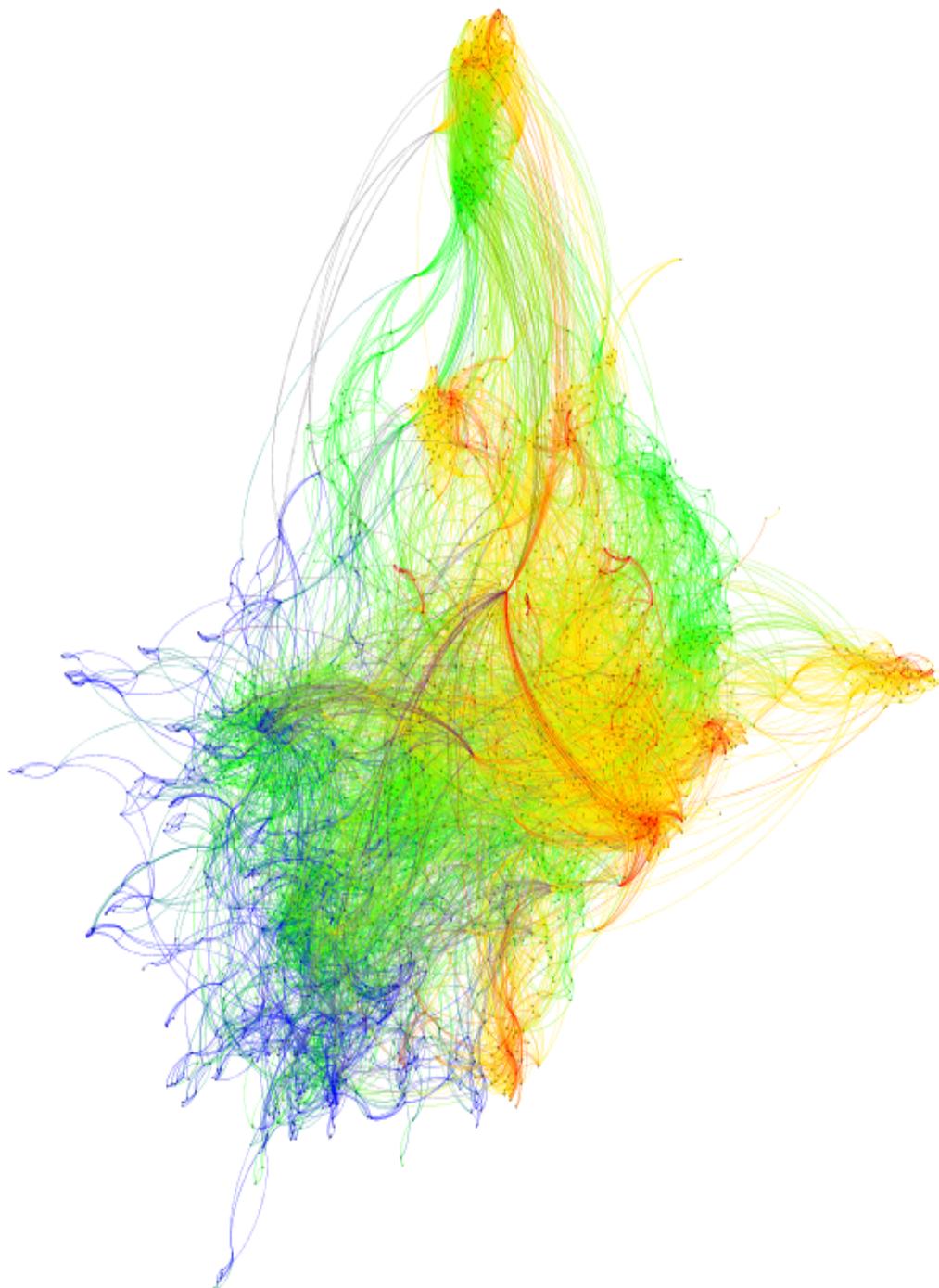


Figura 5.1. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de controles de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

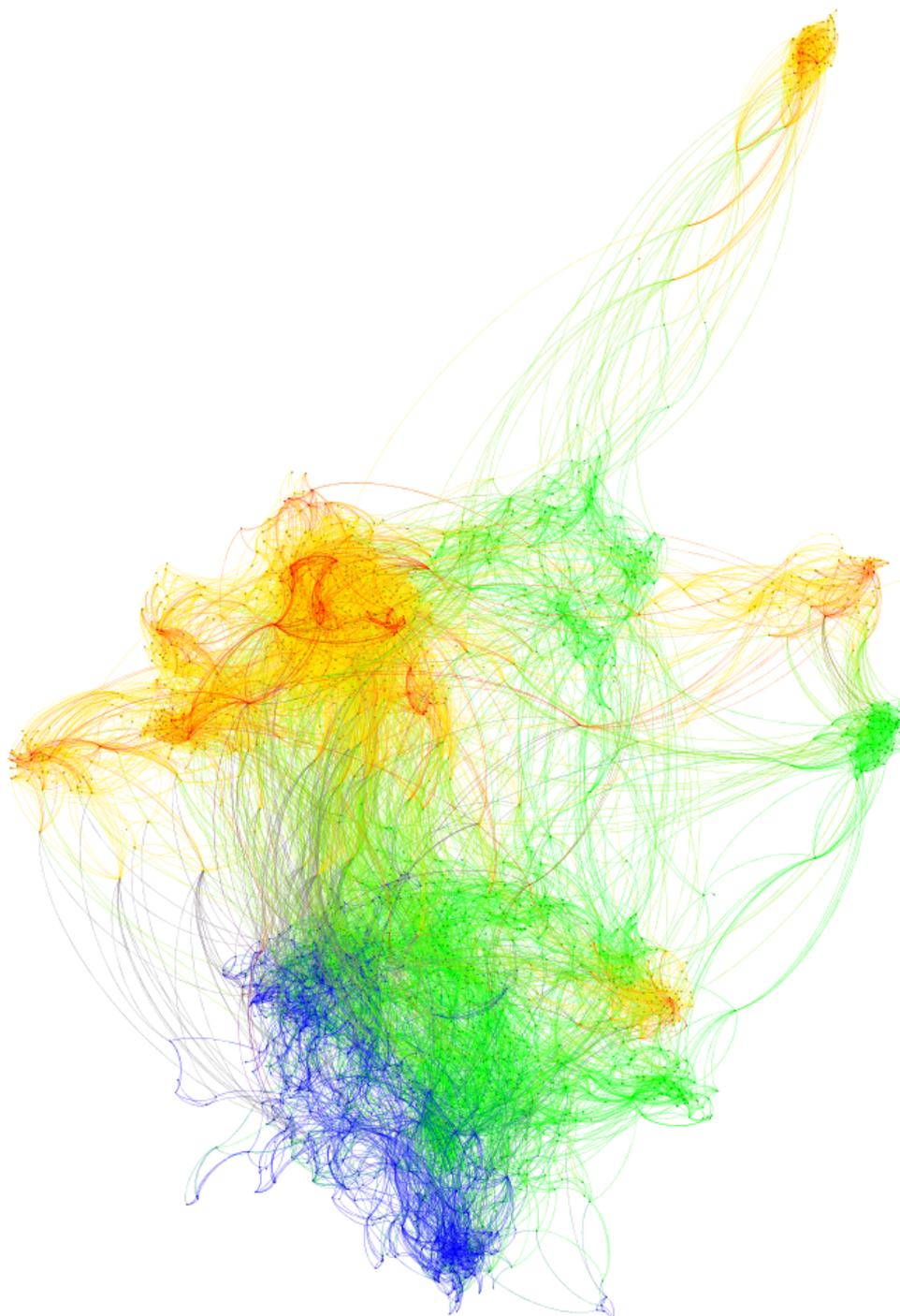


Figura 5.2. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

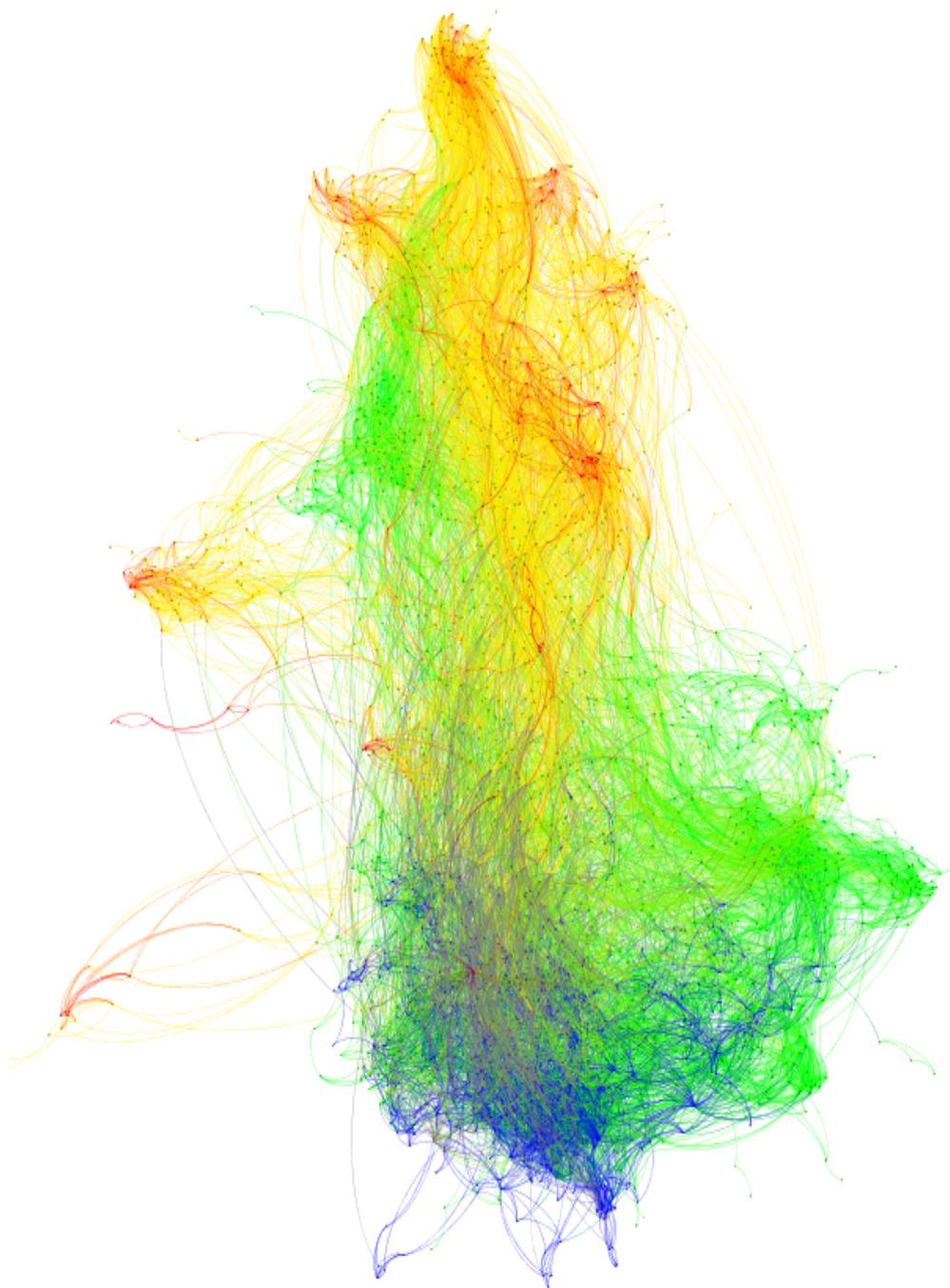


Figura 5.3. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

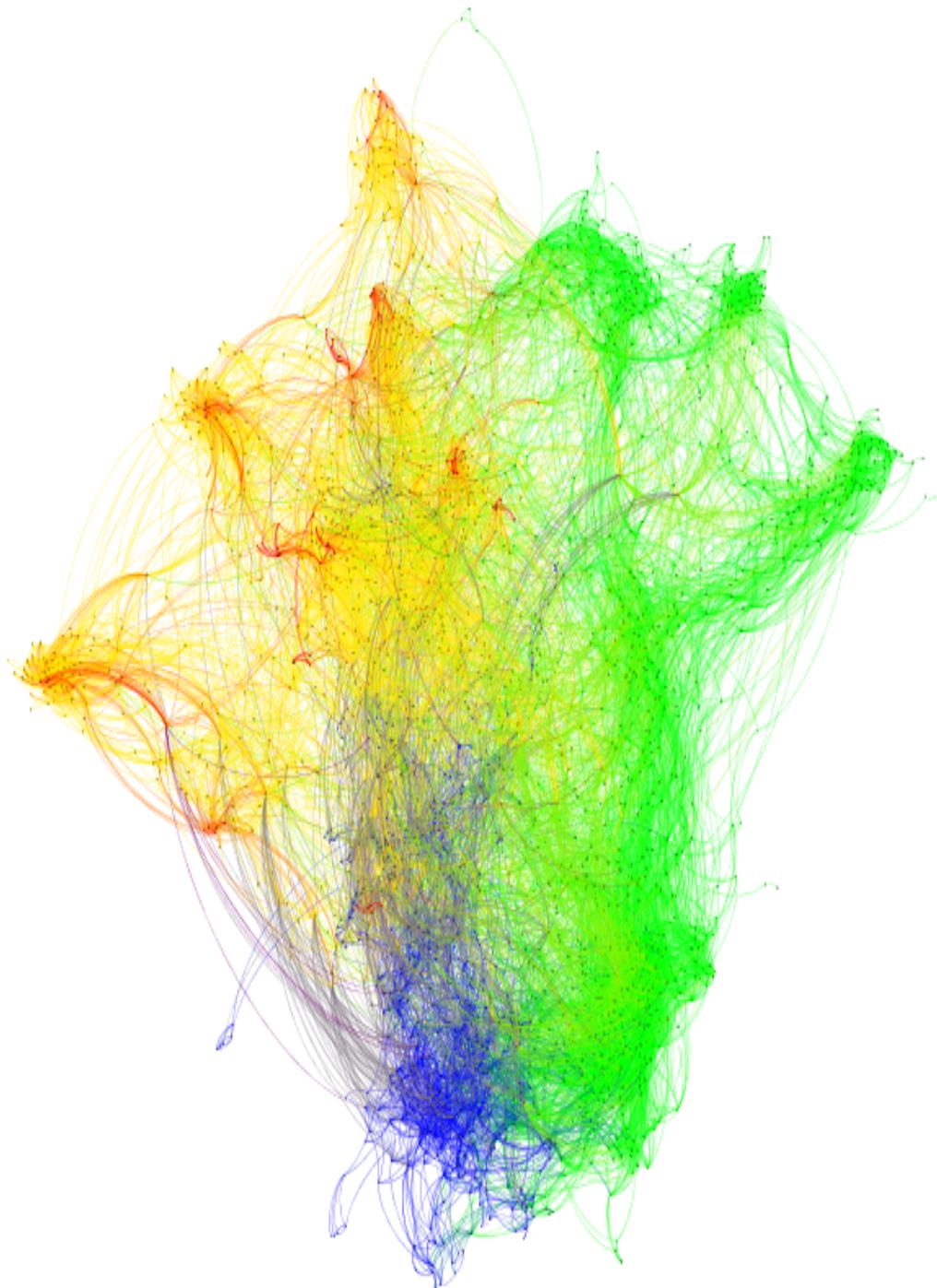


Figura 5.4. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

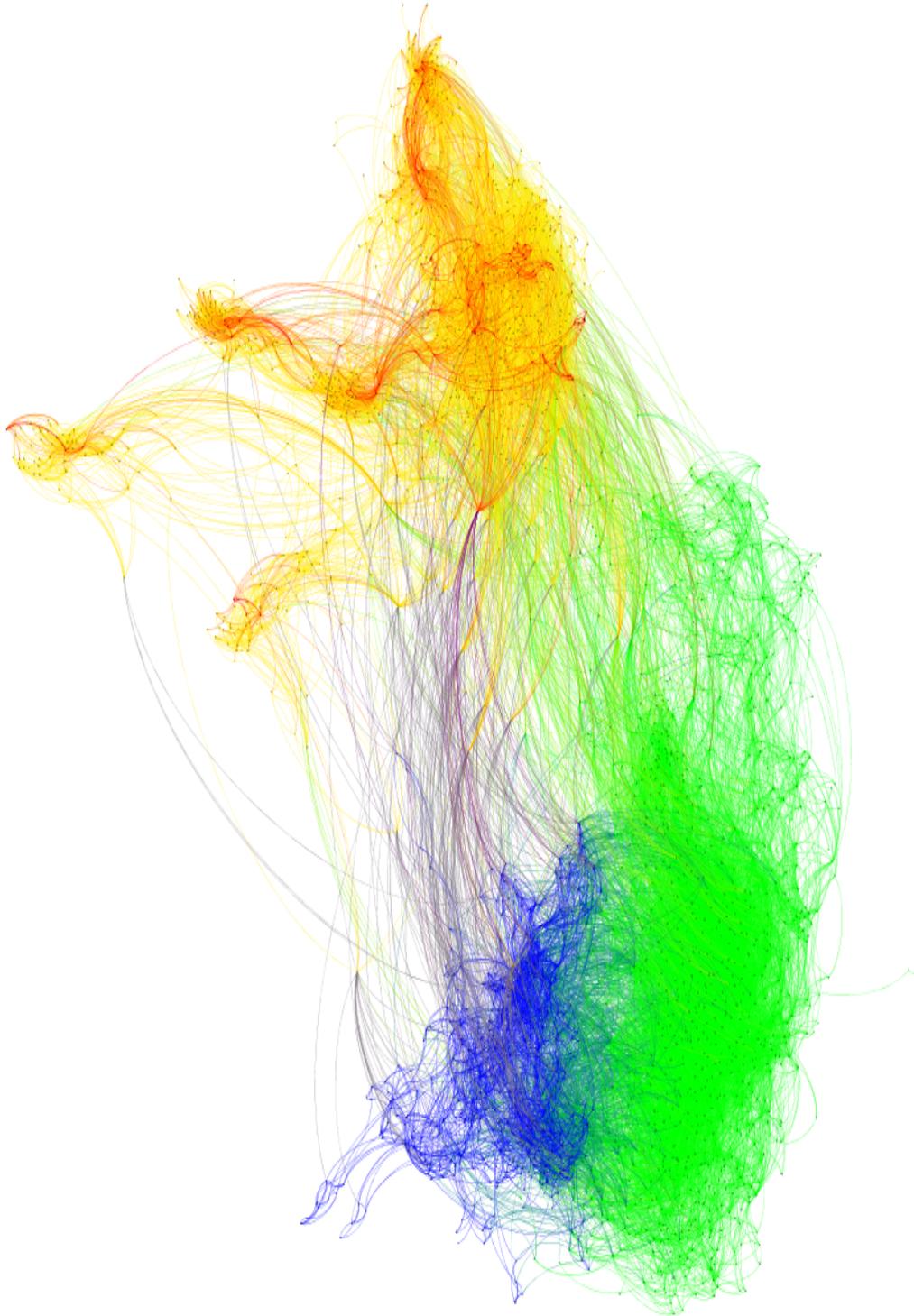


Figura 5.5. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia severa por EA de la base de datos POCTEP. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

SUJETOS	MEDIDAS	
	Modularidad	Coefficiente de Agrupamiento
Controles	0.753	0.397
DCL	0.737	0.359
EA leve	0.706	0.341
EA moderada	0.731	0.361
EA severa	0.683	0.374

Tabla 5.1. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes neurofisiológicas de cada uno de los grupos de la base de datos POCTEP

5.2.2. Estabilidad de las redes POCTEP

Aplicando la metodología de *bootstrap* con 250 iteraciones con el objetivo de analizar la estabilidad de las redes electrofisiológicas obtenidas a partir de la base de datos POCTEP, se puede apreciar, observando las figuras 5.6, 5.7, 5.8, 5.9 y 5.10, que las 5 redes obtenidas son estables, sin apenas valores de asociación que se acerquen a 0. Además, las líneas que indican a partir de qué valores de asociación estos empiezan a ser estadísticamente significativos aparecen cerca de 0, lo que muestra que ningún valor de asociación representado en las redes es no estable. Debido a la estabilidad que estas redes parecen tener, parece razonable que se pueda replicar el análisis de estas redes con el empleo de otras bases de datos.

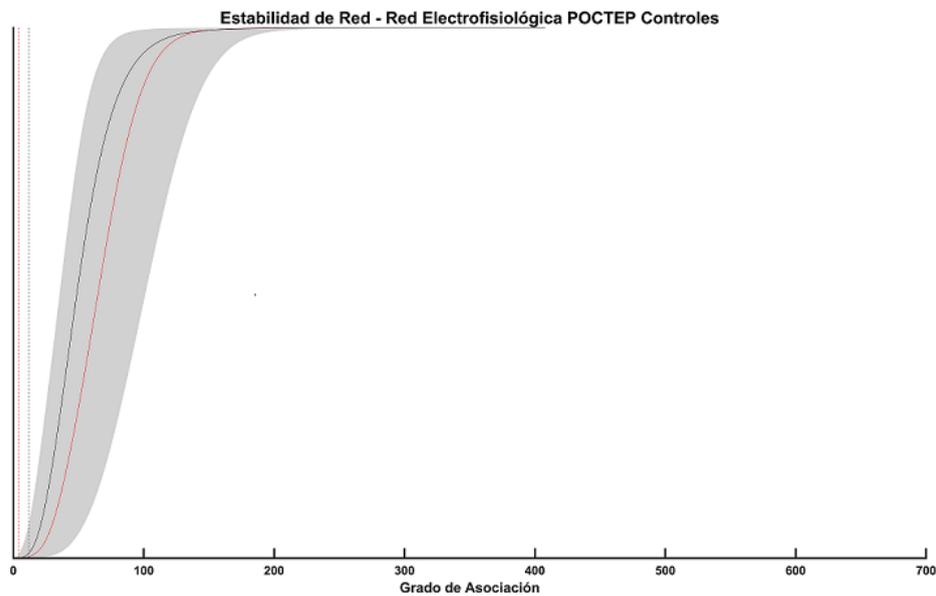


Figura 5.6. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de controles de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

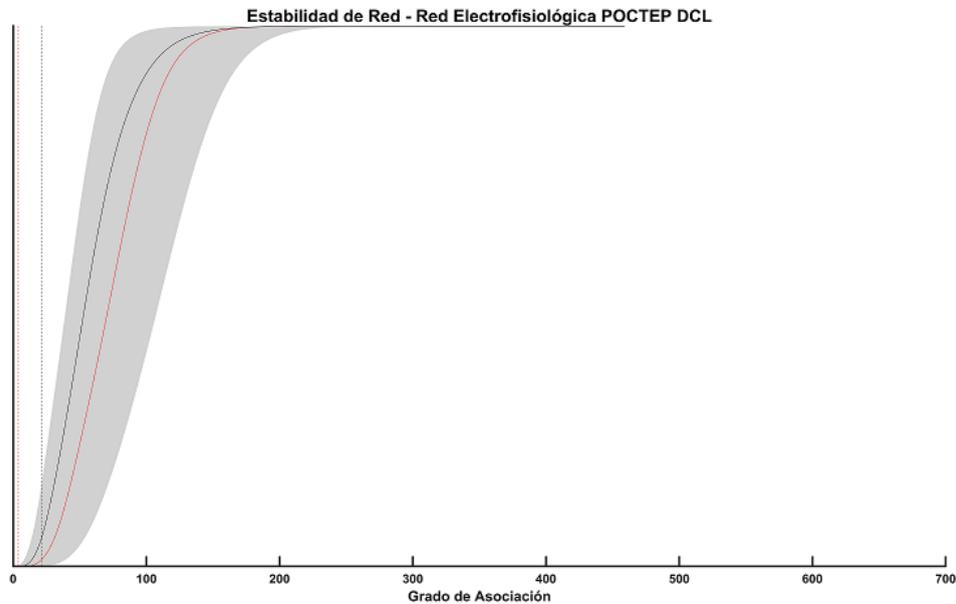


Figura 5.7. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95% de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

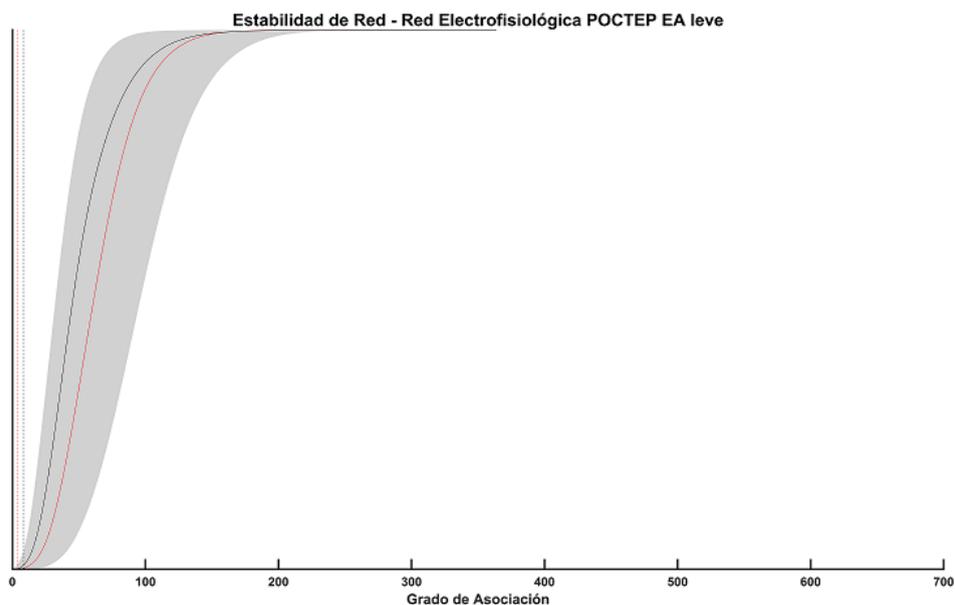


Figura 5.8. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95% de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

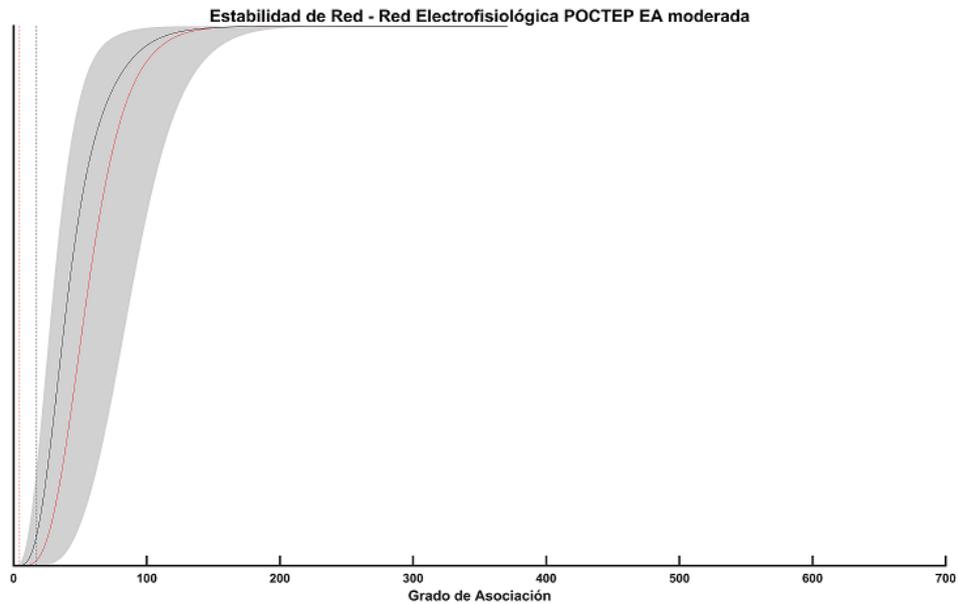


Figura 5.9. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

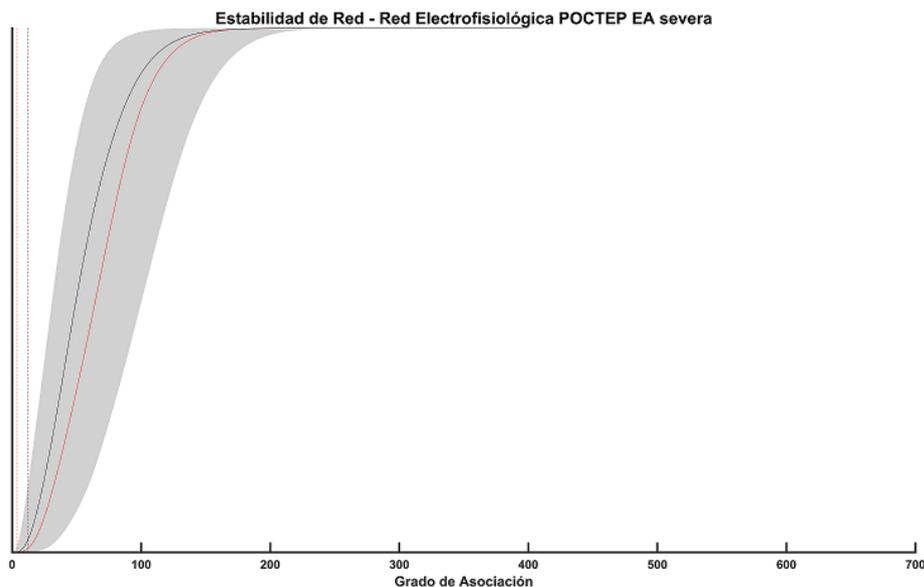


Figura 5.10. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia severa por EA de la base de datos POCTEP, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

5.2.3. Base de datos HURH

Con el objetivo de analizar si los resultados observados con las cinco redes anteriores se replica en otras bases de datos, tal y como parecen indicar los análisis de estabilidad de red de las mismas, se ha procedido a repetir el análisis realizado con otra base de datos de EEG, obtenida del HURH. Se han utilizado las señales con las mismas características que en el anterior análisis, es decir, se han empleado señales EEG a nivel de fuentes cerebrales con 68 ROIs, utilizando las mismas medidas de EEG. Al igual que antes, se han mostrado aquellas asociaciones cuyo valor es igual o superior a 0.8 por el valor máximo de las asociaciones para cada grupo.

En la figura 5.11 se puede observar la red generada para el grupo de controles con la base de datos HURH, en la cual se pueden observar las medidas espectrales en verde, las no lineales en azul, las medidas de conectividad en amarillo, y las de red y teoría de grafos en color rojo. En ella se aprecia que las medidas están muy conectadas entre sí, viendo que las que aparecen más separadas pertenecen a bandas distintas en el caso de las medidas de conectividad y de red, de manera semejante a la red generada con la base de datos de POCTEP. La diferencia es que, en este caso, las medidas espectrales están más juntas, formando un clúster más estructurado.

Si se observa ahora la figura 5.12, correspondiente a los pacientes de DCL por EA de la base de datos del HURH, se puede apreciar como todas las medidas se dispersan, de forma semejante a lo obtenido con la red de la base de datos del POCTEP a excepción de las medidas no lineales, que en el caso de la base de datos del POCTEP estas comienzan a agruparse, pero en la base de datos del HURH permanecen dispersas.

Entrando ahora en los estadios propios de la EA, en la figura 5.13 se puede observar la red obtenida con las medidas de la actividad eléctrica cerebral de los pacientes con EA leve de la base de datos del HURH. En este caso, las medidas espectrales parecen agruparse, apareciendo en la parte superior izquierda las medidas no lineales estructurándose en un clúster propio. La tendencia de estas medidas es semejante a la que se observa para la base de datos del POCTEP. Además, de igual manera que en el caso de la base de datos del POCTEP, las medidas de conectividad y de red se muestran separadas de los dos clusters de las medidas de sincronización local, pero a diferencia del caso de la base de datos del POCTEP, estas están más dispersas.

Por último, en la figura 5.14 puede observarse la red obtenida de los pacientes con EA moderada de la base de datos HURH. En esta red se aprecia de nuevo una separación en dos clústers de las medidas espectrales, que aglutinan a su vez a las medidas no lineales. A su vez, las medidas de conectividad y de red sí que parece que se han agrupado, situándose alrededor de las medidas no lineales. Este caso se asemeja también al obtenido en la base de datos POCTEP, con la diferencia de que, en este caso, las medidas no lineales están entre los clústers de las medidas espectrales, no en una posición clara en la parte superior de estas.

Observando los valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento de las redes de la base de datos HURH, que aparecen en la tabla 5.2, puede apreciarse en primer lugar que, para la modularidad, su valor se incrementa en la red de los pacientes con DCL respecto a la red de los controles y, después, este valor se va reduciendo conforme avanza la enfermedad. Esta tendencia se repite para los valores del coeficiente de agrupamiento, incrementándose el valor en la red de los pacientes con DCL respecto a los controles, y reduciéndose a posteriormente a medida que avanza la enfermedad.

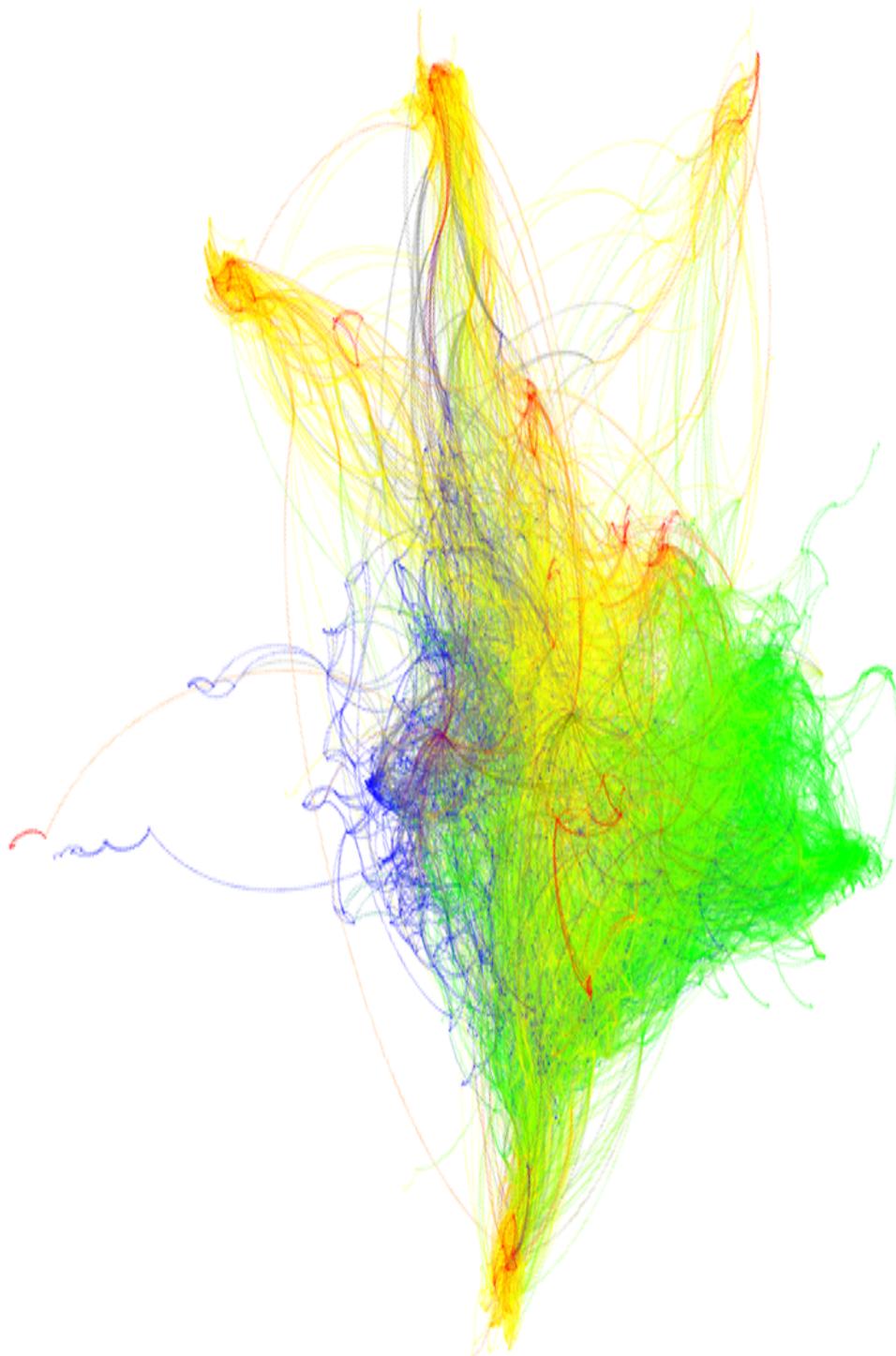


Figura 5.11. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de controles de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

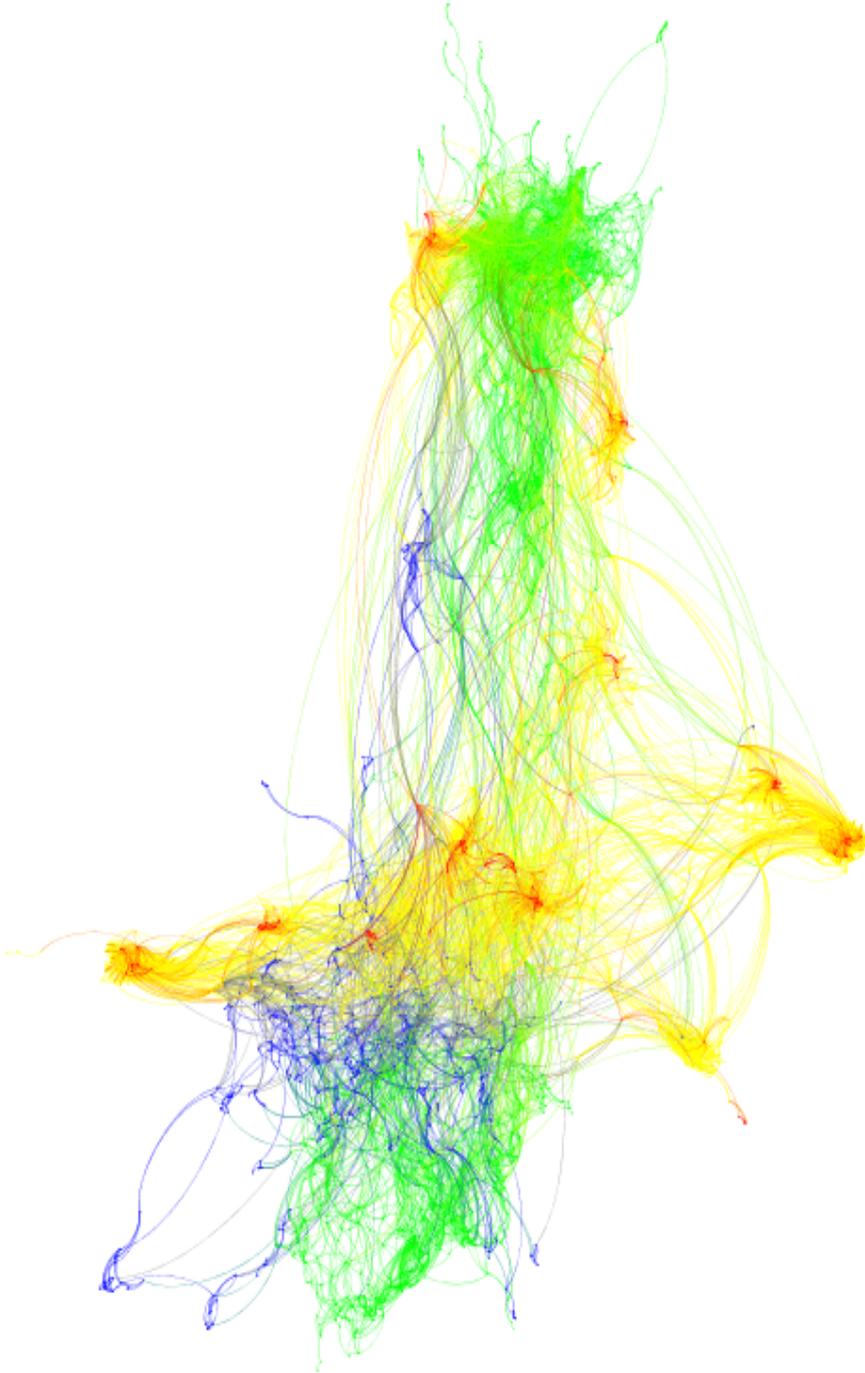


Figura 5.12. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).



Figura 5.13. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

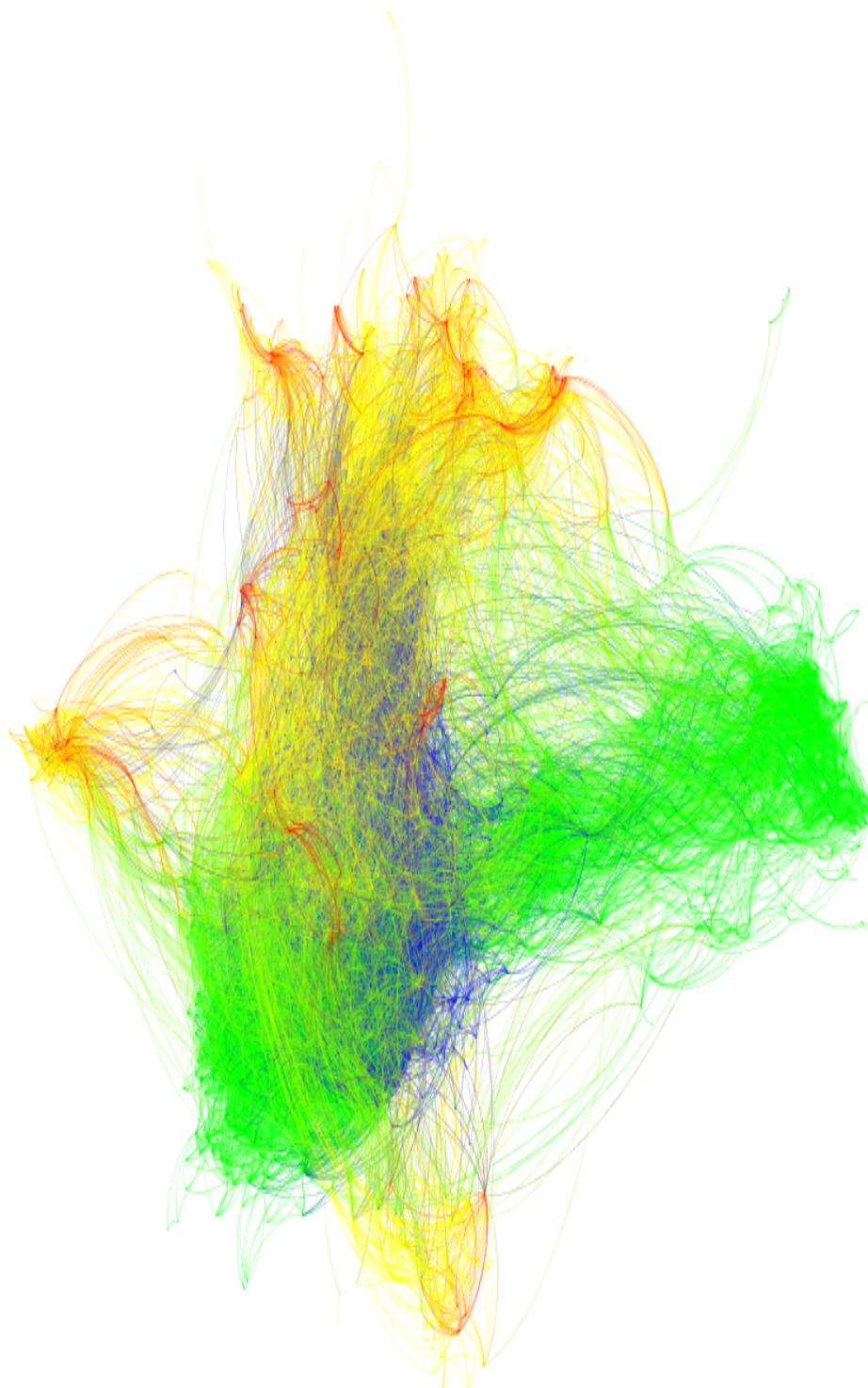


Figura 5.14. Red de asociación de métricas de EEG para el grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos HURH. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

5.2.4. Estabilidad de las redes HURH

Para comparar con el análisis de red de la base de datos POCTEP, se ha empleado de nuevo la metodología *bootstrap* con 250 iteraciones para analizar la estabilidad de las redes electrofisiológicas obtenidas con la base de datos HURH. Puede observarse en las figuras 5.15, 5.16, 5.17 y 5.18 que estas redes son también estables, obteniendo casi todos sus valores alejados de 0, incluyendo su rango intercuartil. Por otra parte, las líneas que marcan a partir de qué valores son estadísticamente significativos son muy cercanas a 0, por lo que todos los valores estadísticamente significativos se alejan del 0, siendo valores estables.

SUJETOS	MEDIDAS	
	Modularidad	Coefficiente de Agrupamiento
Controles	0.693	0.383
DCL	0.819	0.441
EA leve	0.779	0.414
EA moderada	0.624	0.321

Tabla 5.2. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes neurofisiológicas de cada uno de los grupos de la base de datos HURH.

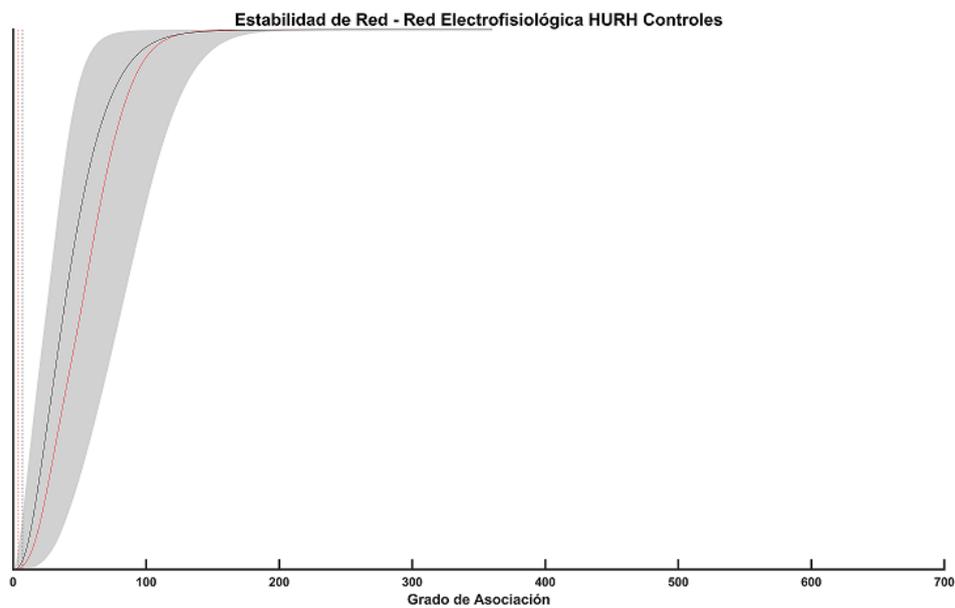


Figura 5.15. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes de control de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.1. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son estadísticamente significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

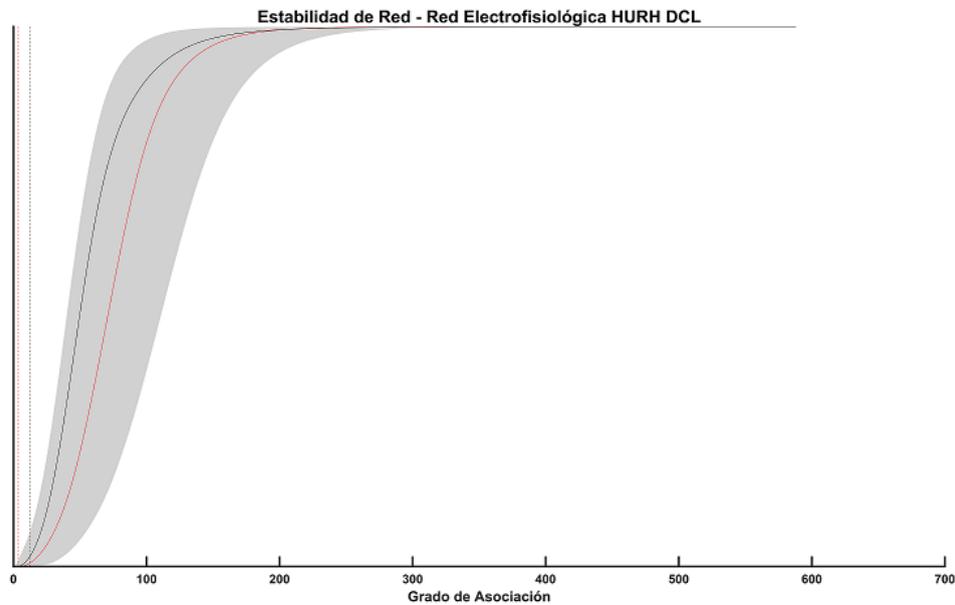


Figura 5.16. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con DCL por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.12. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

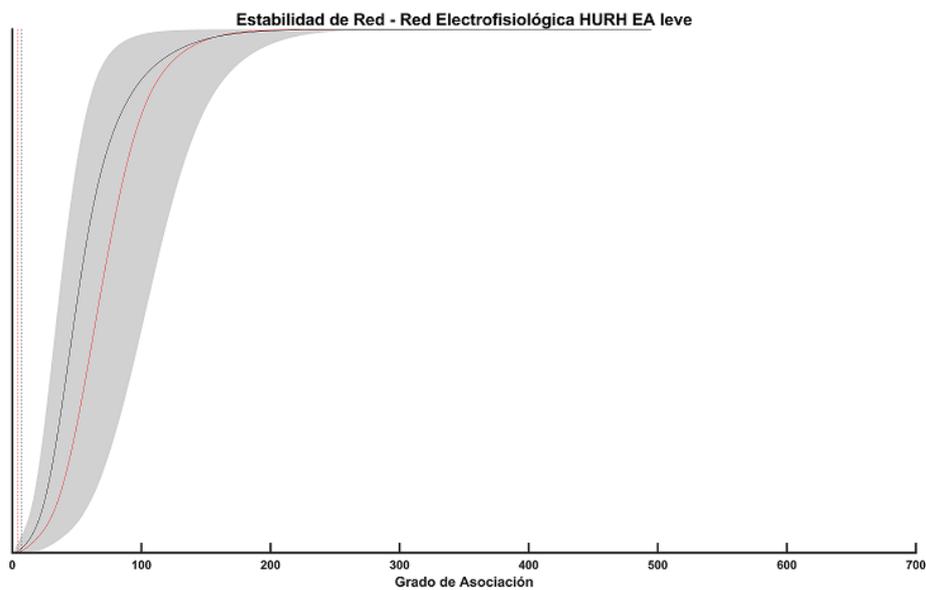


Figura 5.17. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia leve por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.13. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

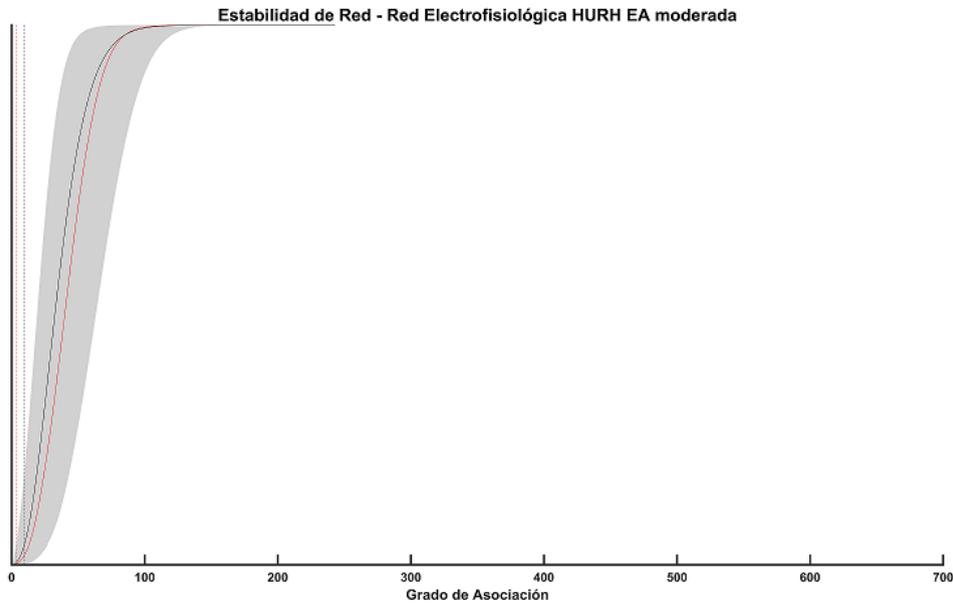


Figura 5.18. Gráfica de estabilidad de red para la red electrofisiológica del grupo de pacientes con demencia moderada por EA de la base de datos HURH, que aparece en la figura 5.14. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son estadísticamente significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

5.3. Redes genéticas

En segundo lugar, se ha realizado el análisis de todos los SNPs utilizados en Macedo et al. (2021) mediante redes de asociación, dividiendo a los sujetos participantes en los 5 grupos de estudio. Estas redes de asociación pueden observarse en la figura 5.20. Los diferentes clústers se han obtenido mediante el método de Newman, y se han coloreado siguiendo dicho patrón. Además, se ha calculado la modularidad y el coeficiente de agrupamiento de las redes para así establecer una comparación entre ellas.

En la figura 5.20 (a), correspondiente a los valores genéticos de los controles, se pueden observar la diferente disposición que tienen los clústers, existiendo numerosas conexiones entre ellos. Posteriormente, se observa en la figura 5.20 (b) la disposición de los genes para los pacientes con DCL por EA. Comparando esta segunda red con la correspondiente a los controles, se aprecia una mayor nitidez entre los diferentes clústers, es decir, estos aparecen más dispersos entre ellos, y los nodos que los conforman están más próximos entre sí con una asociación mayor. Sin embargo, el número de asociaciones entre los diferentes clústers se ha reducido considerablemente. Además, como puede observarse en la tabla 5.3, el valor de la modularidad es mayor para los pacientes con DCL que para los controles, tendencia que se invierte con el CIC, ya que para los DCL este disminuye con respecto a los controles.

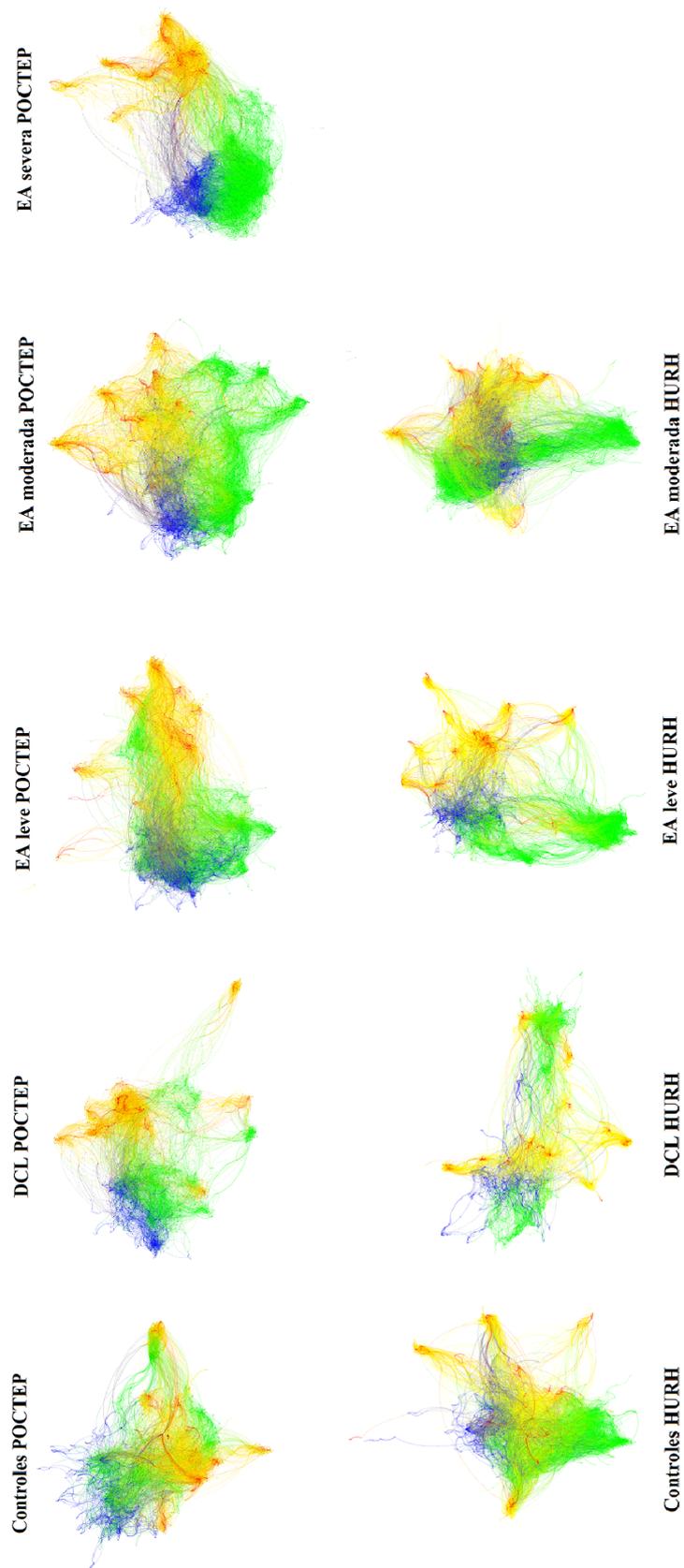


Figura 5.19. Resumen de las redes asociación de métricas de EEG para las dos bases de datos empleadas en este TFM. Se pueden observar los distintos nodos de las medidas espectrales (verde), no lineales (azul), de conectividad (amarillo), y de red (rojo).

Entrando en los grupos de la demencia por EA, en la figura 5.20 (c) se puede observar la red genética de los pacientes con EA leve. En ella se puede apreciar la reaparición de las asociaciones entre clústers y, además, la dispersión mayor que sufren los nodos que forman dichos clústers. De hecho, esto se ve también representado en los valores de modularidad y CIC, dado que el primero vuelve a reducirse, incluso por debajo del valor de los controles, y el CIC disminuye también por debajo del valor de los controles.

Si se observa la figura 5.20 (d), correspondiente a los pacientes con demencia moderada por EA, se aprecia un menor número de conexiones que en la red de los pacientes con EA leve, incrementándose el número de nodos que quedan sueltos en el exterior de la red, además de que los diferentes clústers se comienzan a unir entre ellos. Esto se corrobora también analizando el valor obtenido de modularidad y CIC. Estos vuelven a crecer de nuevo, siendo el valor de modularidad muy cercano al obtenido con los pacientes con DCL, y el valor de CIC llega a superar incluso al obtenido con la red de pacientes con DCL.

Por último, observando la figura 5.20 (e) correspondiente a los pacientes con demencia severa por EA, se puede apreciar como existe un gran número de nodos que quedan totalmente aislados, apareciendo en el exterior de la red. Esto significa un menor número de asociaciones entre clústers, observando además que algunos aparecen junto a otros formando un clúster conjunto, pero en general existe una clara desconexión entre clústers. Esto también puede verse al calcular los valores de modularidad y CIC, ya que a este grupo corresponden los valores más altos de estas dos medidas, superando al valor obtenido por los pacientes con demencia moderada por EA.

En la tabla 5.3 aparecen los valores obtenidos de modularidad y CIC de cada una de las redes de los grupos bajo estudio.

5.3.1. Estabilidad de red

Se ha procedido a analizar la estabilidad de las redes genéticas mediante la metodología *bootstrap* con 250 iteraciones. Se observa como estas redes no son estables, ya que gran parte de los valores, en su rango intercuartil, poseen valores cercanos o igual a 0. Además, se puede apreciar cómo los umbrales a partir de los cuales los valores de asociación son estadísticamente significativos aparecen alejados del 0, exponiendo la poca estabilidad que poseen estas redes genéticas. La evidencia de esta baja estabilidad por parte de estas redes genéticas impacta en la capacidad de realizar la replicación de los resultados mediante el uso de otras bases de datos con información genética.

SUJETOS	MEDIDAS	
	Modularidad	Coficiente de Agrupamiento
Controles	0.869	0.569
DCL	0.904	0.559
EA leve	0.845	0.529
EA moderada	0.892	0.592
EA severa	0.929	0.798

Tabla 5.3. Valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para las redes genéticas de cada uno de los grupos bajo análisis.

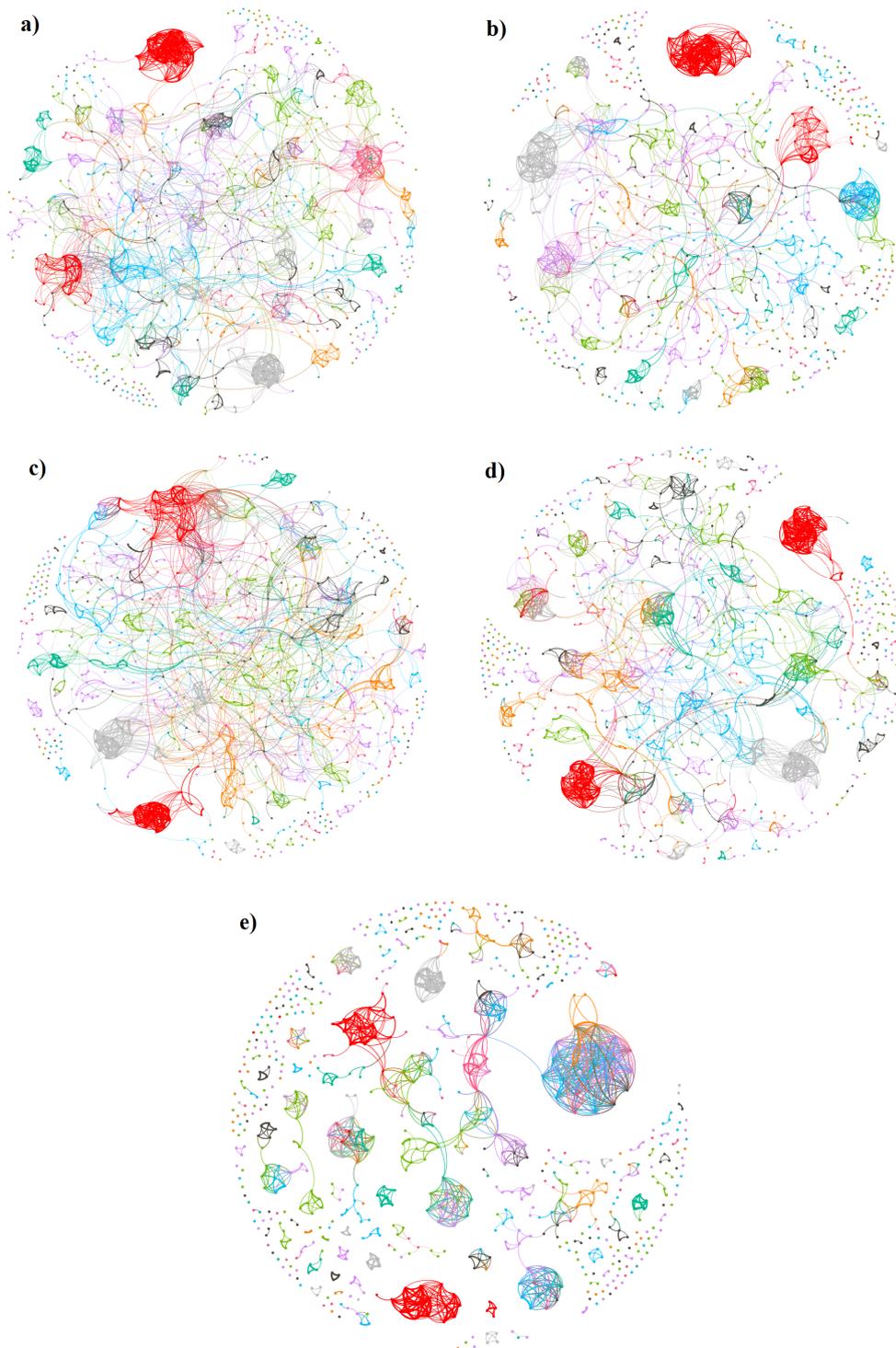


Figura 5.20. Redes de asociación con información genética de los diferentes grupos bajo estudio: (a) controles; (b) pacientes con DCL por EA; (c) pacientes con demencia leve por EA; (d) pacientes con demencia moderada por EA; y (e) pacientes con demencia severa por EA. Los diferentes clústers coloreados se obtuvieron con el método de Newman.

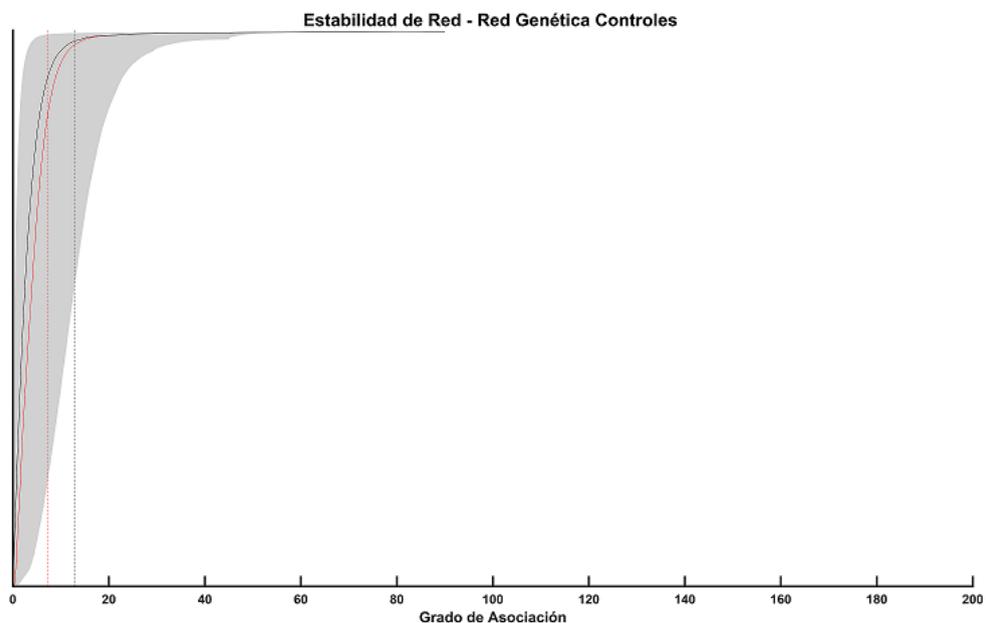


Figura 5.21. Gráfica de estabilidad de red para la red genética de los controles de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

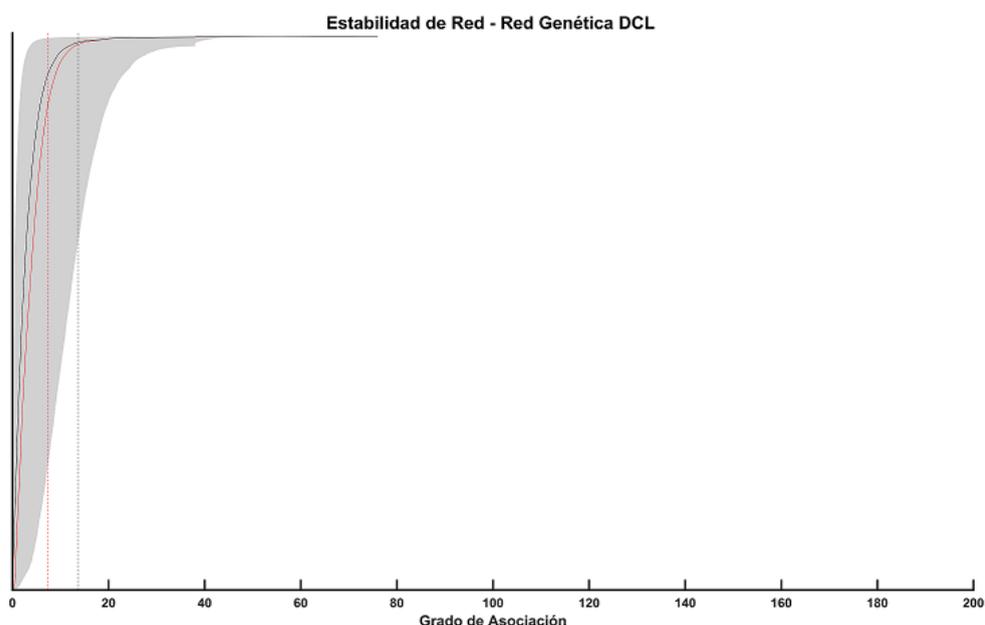


Figura 5.22. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con DCL de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

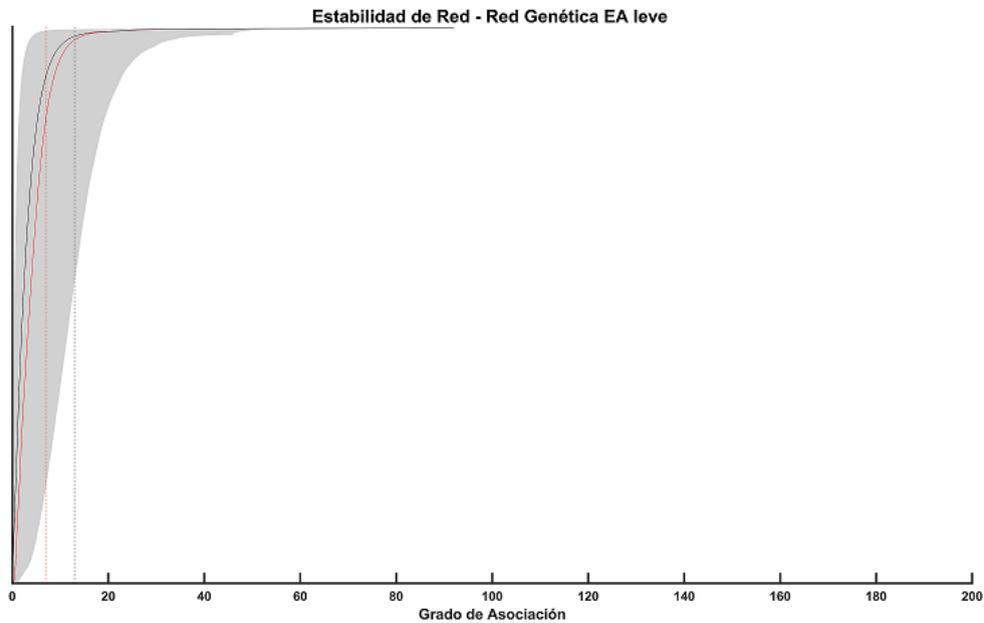


Figura 5.23. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA leve de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

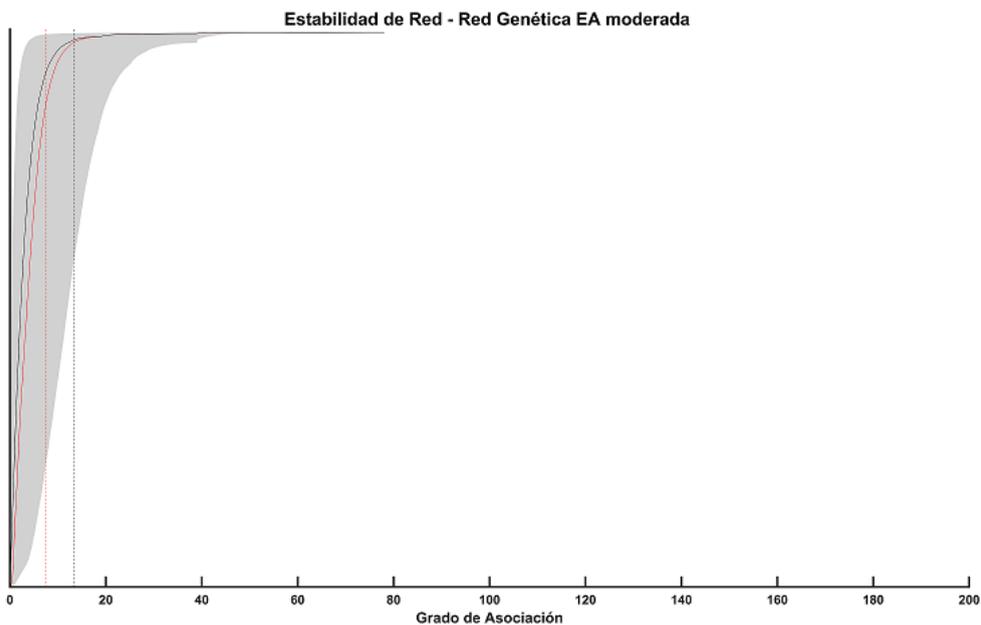


Figura 5.24. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA moderada de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

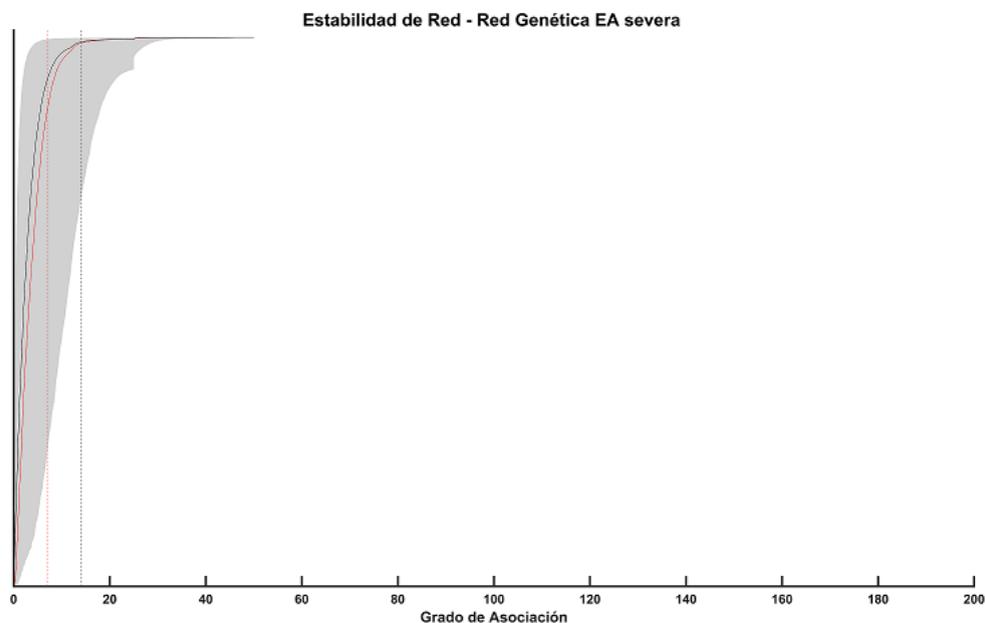


Figura 5.25. Gráfica de estabilidad de red para la red genética del grupo de pacientes con EA severa de la figura 5.20. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

5.4. Redes globales

Por último, en esta sección se procede a analizar la asociación entre parámetros de los diferentes tipos, es decir, datos sociodemográficos, información clínica, medidas de actividad EEG y genética. Para este análisis, puesto que se ha promediado el valor de las medidas de EEG, se han utilizado las señales a nivel de sensor. En este apartado, se han generado 2 redes, una más amplia y otra reducida, añadiendo en esta última diferentes parámetros de red y de dinámica de conectividad. Para la primera red, que puede observarse en la figura 5.26, se han utilizado los siguientes factores:

- **Datos sociodemográficos.** Edad, sexo, estudios, dieta, ejercicio físico, alcoholismo, tabaquismo, y comorbilidades cardiovascular, hormonal y sensoriomotora.
- **Información clínica.** Severidad de la enfermedad y puntuación del test MMSE.
- **Medidas de EEG.** Espectrales (RP en delta, zeta, alfa, beta 1, beta 2 y gamma; MF, IAF, SE); no lineales (LZC, FuzzyEn, CTM, SampEn); de conectividad en las 6 bandas de frecuencias (PLI, AEC, coherencia (COH)); y de red en las 6 bandas de frecuencias: CIC, G, PL, eficiencia (Eff), densidad global, radio de red (R), complejidad (Comp), CC, SW, *average dwell time* y *TAS complexity*.
- **Información genética.** SNPs con resultado significativo analizados por Macedo et al. (2021).

Los datos sociodemográficos, que aparecen en rojo en la red, aparecen dispersos en las regiones exteriores de la red asociados sobre todo a las variables de información clínica, pero también

a algunas medidas de EEG y a algunos SNPs, mostrando que estos parecen poseer una cierta relación con los procesos que se llevan a cabo durante el avance de la EA, aunque en primera instancia no parezcan proporcionar información sobre ello.

En segundo lugar, las medidas de información clínica aparecen en color morado en la región central de la red, asociándose con el resto de variables, principalmente con las medidas de EEG. Esto parece indicar el empleo de esta técnica es muy importante para detectar aquellas alteraciones fisiológicas que la EA produce en los pacientes.

En tercer lugar, se puede observar como las medidas de EEG forman diferentes clústers, siendo el más visible el que forman las medidas de conectividad y red en color amarillo y naranja, respectivamente. Además, dependiendo de la banda en la que se hayan obtenido las medidas, se pueden apreciar otros clústers de menor tamaño. Por otro lado, se pueden apreciar las pequeñas agrupaciones que forman las medidas espectrales y no lineales, que aparecen en verde claro y verde oscuro, respectivamente, en la zona inferior al clúster formado por las medidas de conectividad y red.

Por último, los SNPs de los diferentes genes analizados son las variables que más se aprecian en la red, apareciendo conectados en gran medida con las medidas extraídas del EEG, pudiendo ofrecer información adicional sobre cómo la enfermedad avanza o qué procesos se están llevando a cabo para que la capacidad cognitiva se vea afectada. A su vez, se aprecian pequeños clústers dentro de estos SNPs, dando a entender que la función que codifican sea semejante, apoyando que dichos SNPs pertenecen al mismo gen o que diversos SNPs que pertenecen a diferentes genes están involucrados conjuntamente en diferentes fases de un mismo proceso.

Para poder apreciar estas asociaciones de manera más clara, se ha reducido el número de variables empleadas, para así obtener una red más fácilmente interpretable. Esta red es la que se puede apreciarse en la figura 5.27, y para su generación se han empleado los siguientes datos:

- **Datos sociodemográficos.** Edad, sexo, estudios, dieta, ejercicio físico, alcoholismo y tabaquismo.
- **Información clínica.** Severidad de la enfermedad y puntuación del test MMSE.
- **Medidas de EEG.** Espectrales (MF, IAF); no lineales (LZC, SampEn); de conectividad (OWD, participación); y de dinámica (*TAS complexity* en delta, zeta, alfa, beta 1 y beta 2; *average dwell time* en delta, zeta, alfa, beta 1 y beta 2).
- **Información genética.** *APOE*, rs3851179 (*PICALM*), rs11136000 (*CLU*), rs744373 (*BIN1*), rs72745817 (*CASS4*), rs3764650 (*ABCA7*), rs17125944 (*FERMT2*).

De esta red se pueden extraer una serie de resultados. En primer lugar, se puede observar que las medidas espectrales y no lineales están muy asociadas, dando a entender que la información espectral y no lineal de la dinámica cerebral están muy relacionadas. Por otro lado, las medidas espectrales están muy asociadas a las variables de información clínica, indicando que el enlentecimiento que sufre la actividad EEG es una forma precisa de poder cuantificar la progresión de la EA. En tercer lugar, se puede apreciar que los datos sociodemográficos de los pacientes están asociados con las variables de información clínica, confirmando estos cierto factor de riesgo para el desarrollo y progresión de la EA.



Figura 5.26. Red de asociación global inicial. Medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), medidas de conectividad (amarillo), medidas de red (naranja), información genética (azul claro), datos sociodemográficos (rojo), información clínica (morado).

Se puede también apreciar un clúster formado por las medidas de dinámica, en este caso *TAS complexity* y *average dwell time*. Este clúster aparece asociado en gran medida con las medidas espectrales y no lineales, lo que podría indicar que el enlentecimiento de la señal de EEG y la pérdida de complejidad e irregularidad que esta sufre parece también tener asociada una alteración en las diferentes configuraciones de red en las que el cerebro se puede organizar, y que van cambiando de manera continua. Estas configuraciones reciben el nombre de meta-estados (Núñez et al., 2021). A su vez, estas medidas están asociadas a las medidas de conectividad, lo que da a entender que las alteraciones en las configuraciones de red tienen asociadas un cambio en la funcionalidad global de cada nodo. Por último, los genes empleados en esta red se eligieron según el *odd-ratio*, que es una medida de cómo los alelos de estos genes producen un efecto de riesgo o

protector (Carmona et al., 2018). Se aprecia que su aportación a las asociaciones no es relevante, e incluso algunos SNPs no poseen asociaciones significativas. Se puede observar que el gen *APOE* tiene asociaciones con las medidas espectrales, siendo el gen que más riesgo confiere al desarrollo de la EA (Carmona et al., 2018; Riedel et al., 2016).

5.4.1. Estabilidad de red

Para comprobar la estabilidad de las redes globales obtenidas, se utilizó de nuevo la metodología *bootstrap* con 1000 iteraciones. En las figuras 5.28 y 5.29 se puede observar que la red global es menos estable que la red reducida, observando como incluso algunos valores significativos de la red global no son estables. Por otra parte, la red reducida muestra que el umbral desde el cual los valores de asociación son estadísticamente significativos es muy cercano a 0, luego todos los valores representados en las redes muestran estabilidad. Sin embargo, este hecho no se repite en la red global, mostrando algunos valores estadísticamente significativos como no estables.

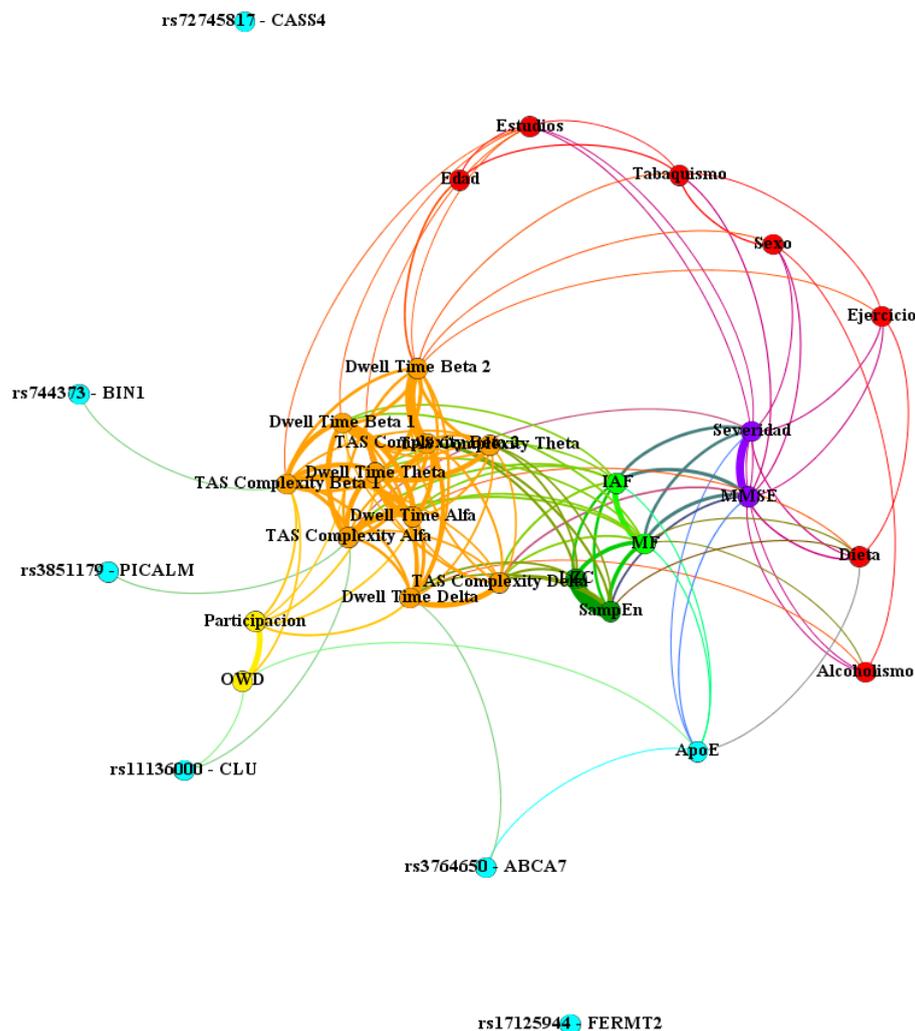


Figura 5.27. Red de asociación global reducida, con medidas de dinámica de conectividad y parámetros de red. Medidas espectrales (verde claro), medidas no lineales (verde oscuro), medidas de conectividad (amarillo), medidas de dinámica información genética (azul claro), datos sociodemográficos (rojo), información clínica (morado).

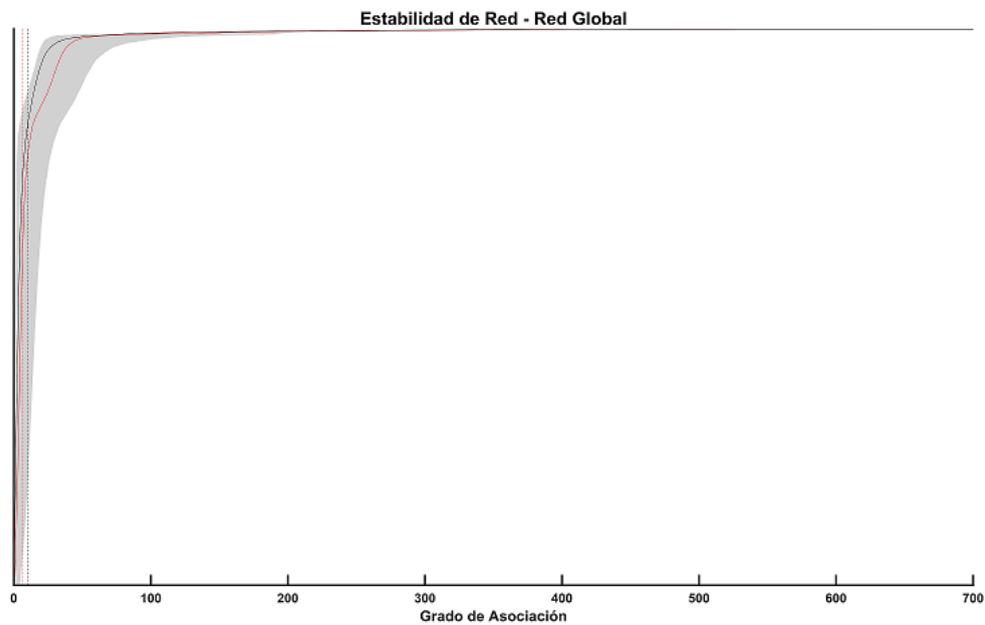


Figura 5.28. Gráfica de estabilidad de red para la red global de la figura 5.26. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

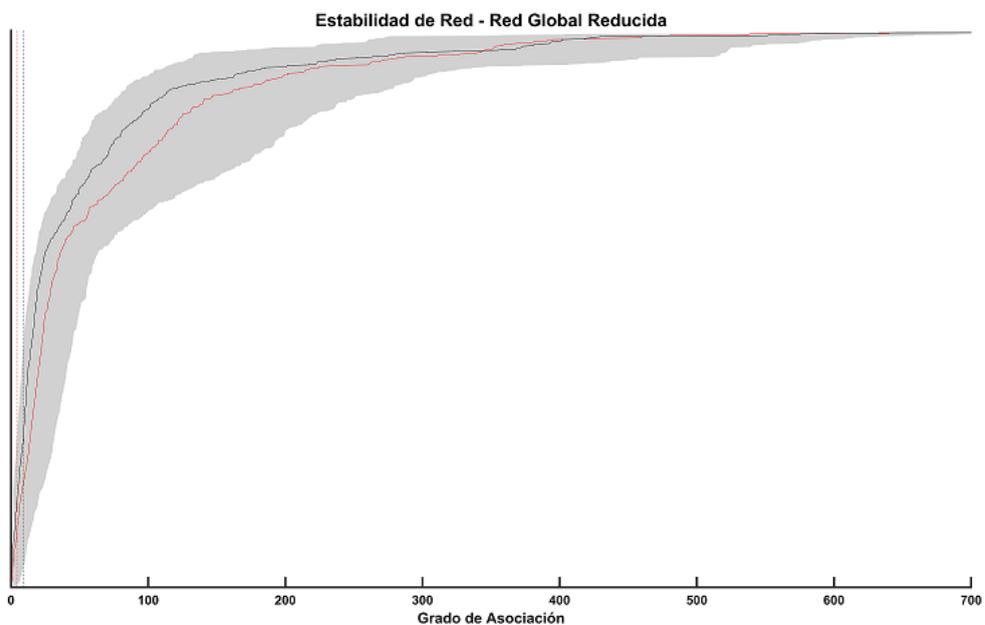


Figura 5.29. Gráfica de estabilidad de red para la red global reducida de la figura 5.27. En negro, valores de la red obtenida. En rojo, mediana de las redes obtenidas con *bootstrap*. En gris, rango intercuartil del 95 % de las redes obtenidas con *bootstrap*. En negro discontinuo, valor a partir del cual los valores de asociación de la red obtenida son significativos. En rojo discontinuo, valor a partir del cual los valores obtenidos con *bootstrap* son estadísticamente significativos.

Capítulo 6

Discusión y limitaciones

6.1. Introducción	72
6.2. Redes electrofisiológicas	72
6.3. Redes genéticas	75
6.4. Redes globales	76
6.5. Limitaciones	79

6.1. Introducción

La demencia debida a la EA es una patología neurodegenerativa que afecta al sistema nervioso central, produciendo alteraciones en los pacientes que la sufren a nivel cognitivo, funcional y conductual (Alzheimer's Association, 2021). Por otra parte, el deterioro cognitivo leve presenta lesiones y/o alteraciones que no se corresponden a un envejecimiento normal, pero no cumplen con los criterios de demencia (Petersen, 2004). Analizar el desarrollo de estas patologías utilizando todos los factores involucrados, como aquellos relacionados con la rutina del paciente, su genética y su información clínica, es de gran importancia. En este TFM se ha utilizado la novedosa técnica de las redes de asociación, que permiten observar de manera directa y sencilla los diferentes grados de relación existentes entre los diversos factores que influyen en el desarrollo de la EA.

En la primera sección de este capítulo se analiza la caracterización de la huella electrofisiológica de cada grupo de sujetos estudiados, dando un razonamiento a las agrupaciones encontradas y cómo estas cambian con la evolución de la enfermedad. En el segundo apartado, se analizan los resultados obtenidos de forma global, obteniendo las asociaciones entre factores de diferentes tipos que intervienen en la EA. Por último, se analizan las redes genéticas obtenidas para cada grupo de sujetos, tratando de dar una explicación a los cambios observados.

6.2. Redes electrofisiológicas

En este primer apartado se ha tratado de caracterizar la demencia debida a la EA en sus diferentes estadios utilizando diversas métricas extraídas de las señales EEG a nivel de fuentes cerebrales. Observando las figuras 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 y 5.5, se puede apreciar como la configuración de las redes de las medidas extraídas del EEG se recolocan, agrupándose cada vez más y diferenciándose entre los 4 grupos de medidas: espectrales, no lineales, conectividad y red. Estas medidas se han empleado para analizar las alteraciones que la EA provocaba en la actividad EEG, como son el enlentecimiento del espectro de la señal, la reducción de la complejidad e irregularidad de la misma, una pérdida de sincronización entre diferentes regiones cerebrales, y la alteración de las diferentes configuraciones de red cerebrales.

Estas medidas fueron empleadas en diversos estudios para analizar los cambios que la demencia por EA ejerce sobre la actividad eléctrica cerebral. Wang et al. (2015) empleó la potencia relativa y la coherencia para diferenciar pacientes con demencia por EA y controles. Se observó que en la banda zeta la potencia relativa es mayor en los pacientes, mientras que esta tendencia se revertía en las bandas de frecuencias altas, es decir, beta y gamma. Para el resto de bandas, las diferencias se encontraban en la zona frontal para la banda delta, y las regiones posteriores para la banda alfa 2 (10 - 12 Hz). Por otra parte, Al-Nuaimi et al. (2018) analizó la complejidad de la señal EEG utilizando diferentes métodos no lineales, como la LZC, la entropía de Tsallis y la dimensión fractal de Higuchi. Se obtuvo que los valores de las tres medidas son menores en los pacientes de EA que en los sujetos de control. Estas diferencias obtenidas entre los dos grupos de sujetos se acentúan si se aplican las medidas a las señales por bandas (Al-Nuaimi et al., 2018). Li et al. (2019) analizaron la conectividad funcional a través del PLI ponderado. En este caso, se obtuvo que los pacientes con EA poseían una conectividad más débil en las regiones orbitofrontal y parietal, sobre todo en la banda alfa. Por otro lado, se observó también que la conectividad en la banda beta estaba más atenuada en pacientes con EA que en controles. Además, se observó en los pacientes con EA una interacción bilateral entre las regiones temporales significativamente mayor que en los sujetos de control (Li et al., 2019). Yu et al. (2017) empleó las medidas del OWD y

el coeficiente de participación para evaluar la conectividad en pacientes con EA. Se observó en este estudio que, en comparación con los controles, los pacientes con EA mostraban un valor de OWD significativamente menor en el hipocampo izquierdo, el precúneo derecho, corteza parietal superior e inferior, y corteza occipital superior, central e inferior. Estas regiones, en el caso de los controles, poseían valores muy elevados. Por otro lado, en las regiones que no se mostraban un valor tan elevado de OWD, esta métrica aumentaba en los enfermos de Alzheimer, lo que quiere decir que la conectividad no se ve alterada en determinadas regiones cerebrales, sino de manera global (Yu et al., 2017). Por último, Núñez et al. (2021) analizaron la aparición de diferentes configuraciones, denominadas meta-estados, y las diferentes características que estos muestran en sus estructuras temporales mediante la *TAS complexity* y el *average dwell time*. Se obtuvo que el *dwell time* de los controles era el más grande de los tres grupos bajo estudio (controles, pacientes con DCL y pacientes con EA), tanto en las señales originales como en señales surrogadas. Por otra parte, los valores obtenidos de la *TAS complexity* muestran diferencias significativas entre grupos en la banda alfa, apreciando también que las secuencias de los sujetos de control poseen una menor *TAS complexity* que los otros dos grupos. En este caso, los valores de las surrogadas son mayores en cada banda de frecuencias que en las señales originales, aunque para los pacientes con DCL los valores son similares (Núñez et al., 2021).

Como se ha comentado, estas medidas empleadas en diferentes estudios reflejan los distintos aspectos en los que la demencia debida a la EA altera la actividad eléctrica cerebral. De aquí se puede extraer que estas medidas muestran, en su conjunto, una pérdida de capacidades en el sistema subyacente, que es el sistema nervioso central. Los diferentes aspectos que tratan cada uno de los tipos de medidas empleadas (espectrales, no lineales, de conectividad, de red, y dinámica) reflejan el comportamiento jerárquico que tiene el cerebro, organizando su funcionalidad fisiológica en diferentes niveles, como son la activación local (medidas espectrales y no lineales), la interacción entre pares de regiones (medidas de conectividad y dinámica), y la organización de red (medidas de red). Las alteraciones presentes en cada uno de estos niveles muestran de una forma directa posibles déficits a nivel funcional y anatómico asociados con el avance de la EA que provocan los diferentes síntomas de la enfermedad, como las alteraciones de memoria o los problemas motores, entre otros (Jeong, 2004). Por un lado, las medidas de conectividad permiten evaluar alteraciones sinápticas junto a la plasticidad sináptica. Esta última es crítica para la realización de determinadas funciones cerebrales, como son el aprendizaje y la memoria (Jeong, 2004). Por otra parte, la pérdida de complejidad e irregularidad, unida a la reducción de la conectividad funcional, probablemente sea debida a una reducción de las dinámicas no lineales de las neuronas y a la pérdida de acoplamiento entre regiones corticales (Jeong, 2004). Por último, el enlentecimiento de la señal puede ser signo de un déficit colinérgico, revelando una pérdida de inervación colinérgica del neocórtex (Jeong, 2004).

Esta jerarquía de niveles, que se ha comentado previamente, puede analizarse a través de las redes generadas en este TFM. Observando la red de los controles en la figura 5.1 como una representación de la jerarquía existente entre los diferentes niveles en su estado normal, se puede apreciar cómo esta jerarquía se ve alterada a medida que avanza la enfermedad en las redes correspondientes a los estados de DCL y demencia leve, moderada y severa por EA. Para las medidas espectrales y no lineales, correspondientes al nivel de activación local, se observa que estas, a medida que enfermedad avanza, comienzan a comprimirse, formando un clúster para cada una de estas medidas. Esta formación de clústers individuales parece indicar que: por una parte, los patrones no lineales de la dinámica neuronal ven reducida su complejidad a nivel global, que puede estar debido a la muerte neuronal, un déficit en la generación y empleo de neurotransmisores que

permitan la comunicación interneuronal, o una falta de responsividad frente a estímulos ambientales (Jeong, 2004); por otra parte, el enlentecimiento del EEG parece estar asociado con la atrofia en regiones de materia blanca, materia gris cortical, y del hipocampo, que provocan una reducción de los grupos neuronales generadores de alta frecuencia, y un incremento en el número de generadores a baja frecuencia (Benwell et al., 2020). Por otro lado, en el caso de las medidas de conectividad, de red y dinámica, para las cuales se ha visto su asociación con los parámetros de la actividad eléctrica cerebral de forma local, también forman clústers individuales a medida que la enfermedad avanza. No obstante, este aparece en el otro extremo de la red, separado de los clústers de las medidas de activación local. Es decir, a medida que la EA avanza, las redes muestran una marcada diferenciación entre los clústers del nivel de activación local con los de organización de red y interacción entre pares de regiones. El hecho de que las medidas de conectividad, de red y de dinámica estén muy separadas entre sí en los sujetos de control, formando pequeños clústers de estas medidas, podría mostrar las complejas configuraciones que el cerebro posee para su normal funcionamiento en las diferentes bandas de frecuencia, viéndose estas alteradas con la progresión de la enfermedad, lo que podría deberse a que frecuencias más bajas tienden a estar asociadas a interacciones de largo alcance, mientras que la actividad cerebral de alta frecuencia está asociada con procesos neuronales efectuados por grupos neuronales localizados (Varela et al., 2001; Von Stein and Sarnthein, 2000). Observando que la modularidad decrece en el último estadio de la enfermedad y que el coeficiente de agrupamiento vuelve a crecer tras una tendencia negativa en los primeros estadios, se podría hipotetizar que la EA genera una disrupción entre estos niveles, principalmente entre los niveles de los parámetros de activación local y los de interacción entre pares de regiones, reduciendo las asociaciones existentes entre ellos. Si se pudiese suponer causalidad entre estos niveles, esta disrupción podría significar que se pierde especialización de los grupos neuronales dedicados a un proceso concreto; esto a su vez puede implicar que los valores de interacción entre regiones puedan ser debidos a una actividad puramente estocástica debida a la aparición de actividad aberrante generada por los procesos neurodegenerativos que ejerce la enfermedad. Además, la vulnerabilidad de las poblaciones neuronales especializadas en la integración de la información en la EA podría reflejar las alteraciones de los parámetros de interacción entre pares de regiones (Van den Heuvel and Sporns, 2013). La ausencia de un grupo de demencia severa por EA en la base de datos HURH hace que se requiera una investigación posterior para esclarecer estas hipótesis. Sin embargo, esta disrupción no se aprecia en las redes electrofisiológicas entre los niveles de parámetros de interacción entre pares de regiones y los parámetros de organización de red, pudiendo deberse a que estos niveles podrían poseer una asociación y una causalidad más fuerte. Para poder esclarecer este hecho, se ha calculado el valor de medidas propias de redes, como son la modularidad y el coeficiente de agrupamiento. La primera de ellas permite medir cómo las variables están de agrupadas entre sí (Gates et al., 2016). En segundo lugar, el coeficiente de agrupamiento se define el grado en el que una serie de nodos vecinos están a su vez conectados con otros nodos, es decir, el grado de interconexión entre nodos (Rubinov and Sporns, 2010). Se puede apreciar cómo estos parámetros se ven modificados en los diferentes estadios de la enfermedad. Esto podría deberse a que, dependiendo del grado de severidad de la patología, los diferentes niveles jerárquicos en los que se organiza la actividad eléctrica cerebral estén sufriendo una disrupción en sus asociaciones, sobre todo entre el nivel de activación local y el resto de niveles. Por tanto, se podría apoyar la hipótesis de la aparición de actividad aberrante entre estos niveles debida a los diversos procesos neurodegenerativos que la EA ejerce sobre la neurofisiología. Entrando en detalle, se puede apreciar en los estadios intermedios de la enfermedad, los valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento poseen distintas tendencias para las dos bases de datos. Para la base de datos POCTEP, el coeficiente de agrupamiento disminuye en el estadio del DCL comparado con los controles, y sigue disminuyendo en la demencia leve por EA, cambiando esta

tendencia al pasar al estadio de la demencia moderada por EA. Sin embargo, en el caso de la base de datos HURH, el coeficiente de agrupamiento en el estadio del DCL aumenta en comparación con los controles, disminuyendo posteriormente en los estadios de demencia leve y moderada por EA. Estas diferencias podrían darse debido a las propias características de los sujetos, es decir, posibles factores que no están siendo tenidos en cuenta en este análisis, pero que podrían ejercer un efecto sobre cómo tienen lugar estos procesos neurodegenerativos que ejerce la EA en los estadios intermedios de la misma.

Se ha podido comprobar, mediante los análisis de estabilidad, que estas redes electrofisiológicas presentan una gran estabilidad. Observando las figuras 5.11, 5.12, 5.13 y 5.14, con las que se han replicado los resultados anteriores, se aprecia una progresión similar a las de las anteriores figuras, salvo que la red de los controles está más organizada que la de los DCL, reorganizándose y agrupándose de nuevo en los primeros estadios de la enfermedad. Para la base de datos del HURH no se poseen datos de pacientes con EA severa; por tanto, no se ha podido incluir una quinta red con la que comparar este último estadio de la enfermedad. Con estas últimas redes, correspondientes a la base de datos HURH, se ha podido comprobar que el análisis de estabilidad realizado a las redes de la base de datos POCTEP mostraba información veraz sobre la posible replicación de los resultados. Además, al realizar el análisis de estabilidad sobre las redes de asociación de la base de datos HURH, estas muestran también una gran estabilidad.

6.3. Redes genéticas

En este segundo apartado se han obtenido las redes de asociación con datos genéticos para cada uno de los grupos introducidos en el estudio. Observando las redes de la figura 5.20, se puede apreciar como entre la red de los controles y la red de los pacientes con DCL existe una reducción de las asociaciones entre clústers, además de existir un mayor agrupamiento entre las variables que pertenecen a dichos clústers. Sin embargo, se aprecia que esta tendencia se invierte al pasar al estadio de EA leve, donde los clústers vuelven a separarse y donde las asociaciones entre variables vuelven a incrementarse. A partir de esta fase de la enfermedad, estas asociaciones presentes uniendo diferentes variables vuelven a reducirse, agrupándose de nuevo las variables en los clústers que forman. De este modo, en el grupo de pacientes de EA moderada se aprecia que las asociaciones son menos numerosas, y los clústers están más definidos. Por último, en la red correspondiente al grupo de pacientes con EA severa, estos enlaces centrales han desaparecido en su mayoría, y ya no solo es que se hayan terminado de definir los diferentes clústers detectados, sino que forman nuevos clústers agrupándose entre ellos.

Estos clústers que se han destacado pueden deberse a varios motivos. El primero de ellos es que se han analizado diferentes SNPs de varios genes. Un SNP es cada una de las variantes de una base nitrogenada en una posición de la cadena de ADN (Ahmadian et al., 2000). Por tanto, es más probable que los SNPs de un mismo gen formen clústers entre sí. El segundo motivo es la similitud entre la función de un gen y otro, o la complementariedad de las funciones codificadas en un gen con las codificadas por otro gen. Esto podría establecer asociaciones entre los diferentes SNPs de estos genes, y por ello generar estos clústers. Si se observa, por ejemplo, el clúster que aparece en color rojo en el extremo superior de la red genética en la figura 5.20 (a), correspondiente a los sujetos de control, este está compuesto por diferentes SNPs pertenecientes al gen *APOE* y al gen *TOMM40*, cuya influencia conjunta ha sido analizada en la literatura existente (Roses et al., 2016). Por otro lado, si se observa el clúster en el extremo derecho de la red genética

en la figura 5.20 (e), correspondiente a los pacientes con EA severa, este se compone de SNPs de los genes *NAV2*, *SORL1*, *UNC5C* y *SLC6A3*; genes cuya asociación con el desarrollo de la EA también ha sido estudiada (Campion et al., 2019; Hu et al., 2020; Li et al., 2018; Wang et al., 2017).

Entre los genes empleados en este análisis, merecen especial mención los genes *APOE*, *PICALM*, *CLU*, *CRI*, *SORL1* y *NAV2*. El gen *APOE* es el gen que confiere un mayor riesgo en el desarrollo de la EA. Actúa como regulador del metabolismo de lipoproteínas, con importantes roles sobre el sistema nervioso central como el transporte de colesterol, la plasticidad neuronal y la inflamación (Kim et al., 2009). Está asociado a la proteína $A\beta$ y tiene un papel relevante en la eliminación y agregación de la proteína $A\beta$ (Kim et al., 2009). Otro gen relevante es *PICALM*, involucrado en la endocitosis de clatrina, y responsable del reciclado de los componentes de la membrana celular y en la regulación de procesos de autofagia (Ponomareva et al., 2017). En su asociación con la EA, *PICALM* parece estar asociado con la eliminación y autofagia de la proteína tau, pudiendo tener relación con la deposición de los ovillos formados por esta proteína (Ponomareva et al., 2017). Por otro lado, el gen *CLU* parece estar relacionado con la EA debido a que su ARN mensajero está muy presente en los cerebros con síntomas de EA, ya que se detecta en las placas de $A\beta$ (Calero et al., 2000). Otro gen relevante es *CRI*, ya que se considera que provoca una cascada de neurodegeneración debido a su asociación con la muerte celular (Zhu et al., 2020). El gen *SORL1* codifica un factor de tráfico endocítico, cuyos niveles modulan el proceso que convierte a la proteína precursora amiloide en proteína $A\beta$ (Young et al., 2015). Por último, el gen *NAV2* parece estar implicado en el crecimiento y la migración celular, y en el desarrollo del sistema nervioso, si bien el cerebro no es el único órgano en el que se puede hallar este gen, ya que también está presente en los riñones, el hígado, la glándula tiroides, las glándulas mamarias y la médula espinal (Wang et al., 2017).

Debido a que estos genes parecen estar involucrados en el desarrollo de la EA, se puede hipotetizar que en determinados puntos puedan llegar a colaborar en la ejecución de sus funciones, incluidas aquellas que, por algún motivo que aún se desconoce, actúen a favor de la neurodegeneración característica de la EA. Sin embargo, las redes generadas en este apartado no tiene capacidad de mostrar estos procesos, simplemente aportan cómo determinados genes parecen estar asociados e ir organizándose con el progreso de la enfermedad. Además, calculando los valores de la modularidad y el coeficiente de agrupamiento para estas redes, se puede apreciar cómo estos parámetros se ven modificados en los diferentes estadios de la enfermedad, lo que podría deberse a que, dependiendo del grado de severidad de la patología, entre estos genes exista una actividad generalizada colaborativa y que, en fases más severas, la colaboración genérica trascienda a una colaboración específica entre determinados genes. Sin embargo, se requiere de un mayor análisis para poder analizar y corroborar este hecho.

Analizando las gráficas de estabilidad de red, se puede apreciar que estas redes no son estables. Los estudios genéticos que analizan el genoma completo o diferentes niveles de expresión genética emplean diferentes bases de datos de un tamaño muy elevado (Bellenguez et al., 2020; Marioni et al., 2018), luego el reducido número de muestras genéticas existentes en este TFM conllevan una limitación importante en esta parte del análisis.

6.4. Redes globales

Para este tercer apartado, se han obtenido las asociaciones entre medidas extraídas de la actividad eléctrica cerebral, datos sociodemográficos, información clínica y genética. Observando la

figura 5.26, se puede apreciar como las medidas de EEG aparecen como eje central de las redes y, alrededor de esta agrupación, aparecen el resto de variables. Para facilitar la comprensión de las asociaciones presentes en esta red, esta se redujo a otra red más pequeña, la cual se puede observar en la figura 5.27. En esta se aprecia mejor como el eje conector central son las medidas extraídas de la actividad eléctrica cerebral. Dentro de estas, cabe destacar a la IAF y la MF, medidas espectrales que permiten medir grado de enlentecimiento de la señal EEG con el avance de la enfermedad. Estas medidas están asociadas a la puntuación del test MMSE y a la severidad de la enfermedad, indicando su potencial como biomarcadores para diagnosticar la EA. Por otro lado, otras medidas de activación local, como son la LZC o la SampEn, permiten analizar las alteraciones que sufre la dinámica no lineal de la actividad EEG. Estas aparecen asociadas a la IAF y la MF debido a que ambos tipos de medidas, espectrales y no lineales, permiten analizar los cambios en la dinámica no lineal de las neuronas y de las frecuencias de los ritmos presentes en la actividad eléctrica cerebral. Asociadas a estas están las medidas de dinámica de la *TAS complexity* y el *dwell time*, y estas, a su vez, están asociadas a las medidas de conectividad de la participación y la OWD. Las primeras permiten realizar una medida de cómo las diferentes configuraciones de red que están presentes en la fisiología cerebral tienen lugar temporalmente, cuán compleja es su aparición (Núñez et al., 2021). Por otro lado, la OWD y la participación son medidas que cuantifican el modo en el que se interconectan las diferentes regiones bajo análisis (Yu et al., 2017). Estas asociaciones permiten apreciar como los diferentes niveles de la jerarquía están conectados entre sí, y de qué manera esta interconexión aporta información de cómo la EA lleva a cabo sus procesos neurodegenerativos. En segundo lugar, en la parte exterior de la red, pueden observarse las asociaciones de estas medidas de EEG con los datos sociodemográficos y la información genética. Como asociaciones más relevantes, se pueden observar el sexo, los estudios, el ejercicio físico, la dieta y el alcoholismo asociados a la severidad de la enfermedad y a la puntuación del test MMSE, viendo como estas variables parecen tener un efecto sobre los efectos neurodegenerativos de la enfermedad. A mayores, se pueden observar asociaciones entre el gen *APOE* y las medidas de la IAF y MF, y la severidad de la enfermedad y el MMSE, simbolizando el posible riesgo que ejerce el alelo $\epsilon 4$ de este gen para desarrollar la EA. Por otro lado, la edad, que es uno de los factores más importantes a la hora de desarrollar la enfermedad, no aparece asociada a la severidad de la misma. Se requiere de más investigación para esclarecer el motivo por el que la edad no posee asociaciones significativas con la severidad.

Diferentes estudios han analizado el efecto que tiene determinados factores intrínsecos a los pacientes, y que parecen tener una gran relevancia en el riesgo de desarrollar la enfermedad y en su progresión. Riedel et al. (2016) analizaron la influencia de la edad, el sexo y el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE*. A pesar de que la edad es el factor de riesgo más importante en el desarrollo de la EA, el sexo y el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* confieren un riesgo añadido, observando que las mujeres con el alelo de riesgo presentan mayor riesgo cognitivo que las mujeres sin dicho alelo. Además, aunque los hombres posean un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad que las mujeres, estas sufren de una mayor rapidez de neurodegeneración que los hombres. Por ello, este artículo concluye que aunque el sexo y la presencia del gen *APOE* aportan un riesgo en el desarrollo de la EA, existe cierto grado de variabilidad que solo depende de la edad. Comparando con los resultados obtenidos en el presente trabajo, estos se encuentran parcialmente alineados con los encontrados en la literatura existente, si bien es cierto que la edad, pese a ser uno de los mayores riesgos para el desarrollo de esta enfermedad, no aparece asociada a la severidad de la patología, mientras que el sexo y la influencia del gen *APOE* sí que poseen asociaciones relevantes.

Por otra parte, se han evaluado diferentes patologías y diversos hábitos modificables propios

de los pacientes que parecen tener influencia en el desarrollo de la enfermedad, aunque a priori no se aprecie ninguna relación. Edwards et al. (2019) analizaron diferentes factores de riesgo modificables por parte de los pacientes, como diversas comorbilidades o aspectos rutinarios de su vida diaria. Por un lado, diversas afecciones cardíacas conllevan un incremento del riesgo de desarrollar demencia por EA, como la hipertensión, aterosclerosis, arritmias, etc., haciendo de enlace entre la demencia por EA y demencia vascular, ya que esta última solo aparece de manera aislada en menos del 10 % de los casos (Vijayan and Reddy, 2016). Muchas de estas patologías cardíacas parecen estar asociadas al gen *APOE*, ya que una de las funciones de este es el transporte y metabolismo de determinados lípidos, incluido el colesterol (Karch and Goate, 2015). Otras comorbilidades asociadas al desarrollo de la EA son: la diabetes de tipo 2, ya que determinados mecanismos de la insulina parecen estar enlazados con el sistema nervioso central; traumatismos craneoencefálicos, provocando estados de amnesia o daño cerebral que puede desembocar en el desarrollo de diferentes tipos de demencia; depresión, uno de los principales síntomas que muestran los pacientes de EA, que también parece estar ejerciendo un riesgo para desarrollarla; o epilepsia, ya que los ataques de la misma pueden conllevar daños cerebrales que pueden afectar al desarrollo de la EA (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020; Takeda, 2019). Por otro lado, diferentes aspectos de la vida diaria de los pacientes pueden ayudar a prevenir el desarrollo de la EA, o dicho de otro modo, determinadas formas de vida puede aportar un riesgo a la hora de desarrollar esta enfermedad (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020). Entre estos aspectos se pueden encontrar el ejercicio físico, ya que este puede evitar la reducción del volumen del hipocampo que sufren los mayores anualmente y ayuda a tener una función ejecutiva mejorada con respecto a los mayores que no realizan ejercicio físico (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020). La alimentación es también un factor importante, ya que determinadas dietas, como la mediterránea, ayudan a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y, por tanto, problemas cerebrales asociados a los mismos (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020). El sueño también parece arrastrar un riesgo de desarrollo de la EA, pues problemas en los patrones del sueño pueden generar un déficit cognitivo, además de que estos problemas de sueño podrían estar asociados a una deposición de proteína $A\beta$ (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020). El consumo de diferentes sustancias, como el tabaco, alcohol o drogas también puede ser crucial a la hora del desarrollo de la EA, pues dicho consumo produce pérdidas en los pacientes a nivel cognitivo, si bien estos mecanismos que provocan no han sido analizados en profundidad y requieren de una mayor investigación (Edwards et al., 2019; Livingston et al., 2020). Otros factores analizados son: el nivel de estudios, ya que a mayor nivel de estudios, la capacidad cognitiva de las personas parece incrementarse, generando cierto factor de robustez frente a posibles ataques; la contaminación ambiental y el contacto social de los pacientes son también otros factores a tener en cuenta para prevenir el desarrollo de la EA (Livingston et al., 2020; Stern, 2012). Todos estos resultados observados en la literatura existente permiten complementar los resultados obtenidos en las redes globales, observando como factores como el alcoholismo, la dieta, el ejercicio físico o el sexo, entre otros, tiene una clara asociación con el grado de severidad de la EA, dando a entender la utilidad que proporcionan estas medidas para analizar el desarrollo y el avance de la enfermedad y que, sin embargo, en muchos casos no se tienen en cuenta.

En resumen, en este TFM se ha observado que estas variables sociodemográficas están asociadas con la propia severidad de la enfermedad, dando a entender la influencia que estos poseen en el desarrollo y progreso de la enfermedad. También aparecen asociadas a algunas medidas obtenidas del EEG, lo cual sugiere que la influencia de estos datos intrínsecos del paciente pueden ser evaluadas a través de la actividad eléctrica cerebral. Diferentes estudios han analizado los cambios que se producen en el EEG debido a algunos hábitos del paciente o el consumo de algunos me-

dicamentos. Por ejemplo, se observó que en pacientes con EA leve bajo tratamiento de donepezil muestran una reducción significativa de la potencia absoluta en la banda zeta en comparación con los pacientes con EA leve sin el tratamiento (Kogan et al., 2001). Al mismo tiempo, los pacientes con EA moderada y severa mostraban una reducción significativa de la potencia absoluta en la banda beta 1 con respecto a los pacientes que no estaban bajo dicho tratamiento (Kogan et al., 2001). Otro estudio examinó posibles cambios en la actividad EEG en pacientes con DCL por EA con la práctica de ejercicio aeróbico. Se observó que, tras unas semanas de ejercicio, los pacientes que practicaban este deporte sufrían una aceleración de la actividad eléctrica cerebral, un incremento de la complejidad de la misma, y una mayor puntuación en el test MMSE respecto de los pacientes que no practicaban ejercicio (Amjad et al., 2019). Por ello, unido a los resultados obtenidos en el presente trabajo, parece que estos hábitos o factores intrínsecos a los pacientes podrían modificar a la actividad EEG, pudiendo ejercer estos cambios en el EEG una posible efecto positivo frente a la neurodegeneración ejercida por la EA o, por contrario, induce un riesgo de aparición o avance de la misma.

El análisis de estabilidad muestra que, para este tipo de redes en las que se emplean medidas heterogéneas, parecen mostrar mayor estabilidad aquellas que poseen un número más reducido de variables, dado que se aprecia mayor estabilidad en la red reducida que en la global. No obstante, la red global tampoco posee excesivas variables, luego la inclusión de nuevos datos sociodemográficos, información clínica, medidas de EEG y genética podría conferir una mayor estabilidad a estas redes.

6.5. Limitaciones

Los resultados obtenidos en el presente TFM y su posterior discusión se encuentran sujetos a una serie de limitaciones que se deben tener en cuenta y que se tratan a continuación.

En primer lugar, se han empleado métodos de imputación de datos faltantes para poder realizar el análisis con el máximo número de variables y sujetos posibles. Este hecho puede introducir desviaciones en los resultados pues estos datos podrían no corresponderse con los reales. Frente a este hecho, sería conveniente probar otros algoritmos de imputación de datos para comprobar la fiabilidad de estos datos estimados.

Por otro lado, se ha empleado una nueva metodología que permite normalizar las bases de datos en función de los valores de las medidas pertenecientes a los controles. A pesar de que este método ha proporcionado buenos resultados, podría ser oportuno probar otros nuevos métodos de normalización y realizar una comparativa entre ellos.

En tercer lugar, aunque se han empleado un elevado número de medidas de la actividad EEG para analizar la huella neurofisiológica de la enfermedad y cómo esta se ve alterada por el avance de la misma, es posible que sea necesaria la inclusión de mayor información para perfeccionar la representación de esta huella neurofisiológica. No obstante, es posible que algunas medidas introducidas no aporten información relevante, lo cual debe ser analizado para obtener una representación más exhaustiva.

Como punto siguiente, el algoritmo de posicionamiento de los nodos y enlaces empleado, Force Atlas 2, podría estar introduciendo un sesgo a la representación, añadiendo o eliminando algún parámetro que permita una mejor distribución de las variables en función del valor de sus enlaces.

Sería conveniente probar otros algoritmos de posicionamiento, como el Fruchterman-Reingold u otros algoritmos disponibles en Gephi.

Por último, entrando en el uso de *bootstrap* para analizar la estabilidad de las redes obtenidas, la falta de capacidad de computación hace que no se puedan emplear excesivas iteraciones, además de que se muestra que con un número mayor de variables y sujetos, la estabilidad de red aumenta, luego el tamaño de las bases de datos podría limitar la capacidad de generalización de los resultados de este estudio.

Capítulo 7

Conclusiones y líneas futuras

7.1. Introducción	82
7.2. Cumplimiento de los objetivos del Trabajo Fin de Máster	82
7.3. Conclusiones	83
7.4. Líneas futuras	83

7.1. Introducción

Este último capítulo tiene por objetivo la exposición de los aspectos más relevantes obtenidos en este trabajo. Por ello, en primer lugar se evaluará el grado de cumplimiento de los objetivos expuestos al inicio de la memoria de este TFM. Posteriormente, se comentarán las principales conclusiones extraídas de este trabajo y una serie de líneas futuras de investigación para próximos análisis.

7.2. Cumplimiento de los objetivos del Trabajo Fin de Máster

El diagnóstico empleado para la detección de la EA es muy complejo, debido en parte al desconocimiento existente sobre los mecanismos cerebrales subyacentes a la enfermedad. Es por ello que el objetivo del presente TFM es el estudio y caracterización de la huella fisiopatológica de la EA, analizando la asociación entre los distintos factores involucrados mediante una novedosa técnica: las redes de asociación. Para la consecución de este objetivo, en el capítulo 1 se establecieron una serie de objetivos específicos. Por ello, a continuación se va a evaluar el grado de cumplimiento de estos de forma individualizada:

- i. Se han leído diferentes artículos, libros y Tesis Doctorales relacionados con la relación entre diferentes factores involucrados en el desarrollo de la EA. De esta manera se han conocido diferentes procesos por los cuales estos factores podrían relacionarse.
- ii. Se ha trabajado con el software R para adquirir suficiente destreza con el método *qgraph* para introducirse en las redes de asociación. También se ha trabajado con la herramienta Matlab para poder realizar los algoritmos finales de este estudio. Por último, se ha trabajado también con el software Gephi para la representación gráfica de las redes.
- iii. Las señales de EEG proporcionadas han sido procesadas con el software Matlab para obtener las diferentes medidas utilizadas. También se ha empleado el software R para estimar los posibles datos que faltaran en la base de datos, terminando el procesado de la base de datos.
- iv. Se ha representado gráficamente las asociaciones entre los factores que intervienen en el desarrollo de la EA utilizando el software Gephi, en el cual se permite el uso de diferentes algoritmos de posicionamiento de los nodos de la red.
- v. Se ha observado un cambio progresivo en las redes a medida que la EA avanzaba en las redes electrofisiológicas. Por otro lado, se han aplicado también medidas de red para cuantificar estos cambios en las redes genéticas.
- vi. Se han analizado los resultados obtenidos en el presente TFM, y se han discutido en relación con otros estudios existentes.
- vii. Una vez discutidos los resultados de este TFM, se presentan una serie de limitaciones y conclusiones de este estudio, así como posibles líneas de investigación a seguir en un futuro.

Se puede observar, por tanto, que los objetivos propuestos en este TFM han sido llevados a cabo satisfactoriamente en su totalidad.

7.3. Conclusiones

Tras analizar los resultados obtenidos, se van a describir a continuación las conclusiones que se han obtenido. Son las siguientes:

1. Las redes electrofisiológicas muestran unos patrones de organización y estructura de los diferentes niveles neurofisiológicos (activación local, interacción entre pares de regiones y organización de red) que se ven alterados con el avance de la enfermedad. Por otro lado, el análisis de estabilidad de red muestra que estas redes son estables, permitiendo así la replicación de los resultados con otras bases de datos.
2. Las redes genéticas muestran como las asociaciones entre los diferentes SNPs analizados disminuyen con el avance de la enfermedad, observando que la interacción entre estos genes se da, en su mayoría, en fases previas de la enfermedad. Además, estos cambios en las redes genéticas pueden ser cuantificados a través de diferentes métricas de organización de red, como son la modularidad y el coeficiente de agrupamiento, mostrando un incremento de estas dos medidas durante el avance de la enfermedad.
3. Al generar una red con todos los factores que se han empleado: datos sociodemográficos, información clínica, medidas de EEG e información genética, se obtienen asociaciones también descritas en la literatura existente, observando cómo los diferentes tipos de factores pueden modular los procesos de la EA, influyendo también en las alteraciones estructurales de la jerarquía de niveles neurofisiológicos anteriormente comentada.

Gracias a la elaboración de este TFM, se ha aumentado el nivel de conocimiento sobre el empleo de las redes de asociación, sobre la generación y estudio de redes, y sobre los factores y procesos involucrados en la aparición y avance de la EA.

7.4. Líneas futuras

Las redes de asociación han mostrado su gran utilidad a la hora de poder establecer asociaciones entre factores que van alterándose con el progreso de la enfermedad, dando inicio a una metodología que puede ser de gran utilidad para conseguir un diagnóstico precoz de la enfermedad. Sin embargo, como en cualquier otro estudio, este TFM no está libre de limitaciones, como se han expuesto en el capítulo 6, que tendrán que superarse en la elaboración de líneas futuras. Estas se describen a continuación.

En primer lugar, si bien la base de datos principal empleada posee un número de pacientes elevado comparable con el utilizado en otros estudios (Babiloni et al., 2018; Núñez et al., 2021; Vecchio et al., 2020), es necesario reclutar nuevos pacientes para tener una base de datos aún más robusta, que genere resultados más estables y replicables. A mayores, es necesario añadir datos longitudinales. Esto permitirá poder apreciar mejor los cambios sufridos por los pacientes, sobre todo en el caso de los pacientes con DCL, ya que permitirá ver las estructuras de la red de asociación cuando un paciente de DCL desarrolla finalmente demencia por EA, o por el contrario, permanece estable en el mismo estado.

Por otra parte, sería conveniente añadir un mayor número de variables al análisis con estas redes. El problema es que, como se ha comentado en la sección de limitaciones, no se dispone de la capacidad computacional para poder llevar a cabo todos los cálculos. Esto se irá solventando

con el tiempo, depurando el código para que este sea más eficiente y al mismo tiempo obteniendo nuevo hardware que mejore dicha capacidad.

Otra línea futura a implementar es el empleo de estas redes para realizar clasificación. Esto permitirá comprobar directamente la inclusión de nuevos sujetos para determinar a qué grupo de severidad pertenecen y, por tanto, generar nuevas herramientas y metodologías que permitan realizar un diagnóstico más precoz y sencillo para los pacientes, sus cuidadores y los médicos neurólogos.

Por último, esta metodología no es únicamente aplicable al DCL y la demencia por EA, sino que se puede emplear para analizar otros tipos de patologías. Hasta el momento se poseen bases de datos de esquizofrenia, migraña y otras patologías neurológicas a las que puede aplicar estas técnicas para poder observar cómo estas alteran las asociaciones entre los factores que intervienen en el desarrollo de estas. Por supuesto, para otras patologías no neurológicas también puede utilizarse, como la apnea del sueño o la reciente Covid-19.

Glosario de siglas y acrónimos

Aβ:	Proteína Beta-Amiloide
ADN:	Ácido Desoxirribonucleico
AEC:	<i>Amplitude Envelope Correlation</i>
AMI:	Auto-Información Mutua (<i>Auto-Mutual Information</i>)
AP2:	<i>Adaptor Protein Complex 2</i>
ApEn:	Entropía Aproximada (<i>Approximate Entropy</i>)
APOE:	Apolipoproteína E
Bayer-ADL:	<i>Bayer-Activities of Daily Living</i>
CC:	<i>Closeness Centrality</i>
CIC:	Coefficiente de Agrupamiento (<i>Clustering Coefficient</i>)
CLU:	Clusterina
CRC:	Cuestionario de Reserva Cognitiva
CTM:	Medida de la Tendencia Central (<i>Central Tendency Measure</i>)
DCL:	Deterioro Cognitivo Leve
DenGlobal:	Densidad Global
EA:	Enfermedad de Alzheimer
ECoG:	Electrocorticograma
EEG:	Electroencefalografía
FFT:	Transformada Rápida de Fourier (<i>Fast Fourier Transform</i>)
FIR:	Respuesta al Impulso Finita (<i>Finite Impulse Response</i>)
FuzzyEn:	Entropía Difusa (<i>Fuzzy Entropy</i>)
G:	Grado de Red (<i>Network Degree</i>)
GE:	Entropía de Grafo (<i>Graph Entropy</i>)
GWAS:	Estudios de Asociación de Genoma Completo (<i>Genome-Wide Association Studies</i>)
HURH:	Hospital Universitario Río Hortega
IAF:	Frecuencia Alfa Individual (<i>Individual Alpha Frequency</i>)
ICA:	Análisis de Componentes Independientes (<i>Independent Component Analysis</i>)
LFP:	<i>Lead Field Potential</i>
LZC:	Complejidad de Lempel-Ziv <i>Lempel-Ziv Complexity</i>
MAR:	<i>Missing At Random</i>
MCAR:	<i>Missing Completely At Random</i>
MEG:	Magnetoencefalografía
MF:	Frecuencia Mediana (<i>Median Frequency</i>)
MMSE:	<i>Mini - Mental State Examination</i>
MNAR:	<i>Missing Not At Random</i>

MRI:	Imagen por Resonancia Magnética (<i>Magnetic Resonance Imaging</i>)
NIA-AA:	<i>National Institute on Aging - Alzheimer's Association</i>
NINCDS-ADRDA:	<i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Strokes - Alzheimer's Disease and Related Disorders Association</i>
OWD:	<i>Overlapping Weighted Degree</i>
PET:	Tomografía por Emisión de Positrones (<i>Positron Emission Tomography</i>)
PICALM:	<i>Phosphatidylinositol-Binding Clathrin Assembly Protein</i>
PL:	Longitud de Camino (<i>Path Length</i>)
PLI:	<i>Phase Lag Index</i>
POCTEP:	Programa Operativo de Cooperación Transfronteriza España-Portugal
PSD:	Densidad Espectral de Potencia (<i>Power Spectral Density</i>)
ROI:	Región de Interés (<i>Region of Interest</i>)
RP:	Potencia Relativa (<i>Relative Power</i>)
SampEn:	Entropía Muestral (<i>Sample Entropy</i>)
SE:	Entropía Espectral (<i>Spectral Entropy</i>)
SEF95:	Frecuencia del Límite Central del 95 % (<i>95% Spectral Edge Frequency</i>)
sLORETA:	<i>Standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography</i>
SNP:	Polimorfismo de Nucleótido Único (<i>Single-Nucleotide Polymorfism</i>)
SW:	<i>Small World Index</i>
T@M:	Test de Alteración de Memoria (<i>Memory Alteration Test</i>)
TF:	Frecuencia de Transición (<i>Transition Frequency</i>)
TFM:	Trabajo Fin de Máster

Bibliografía

- Abásolo, D., Hornero, R., Gómez, C., García, M., and López, M. (2006). Analysis of EEG background activity in Alzheimer's disease patients with Lempel-Ziv complexity and central tendency measure. *Medical Engineering and Physics*, 28(4):315–322.
- Ahmadian, A., Gharizadeh, B., Gustafsson, A. C., Sterky, F., Nyrén, P., Uhlén, M., and Lundberg, J. (2000). Single-nucleotide polymorphism analysis by pyrosequencing. *Analytical Biochemistry*, 280(1):103–110.
- Al-Nuaimi, A. H. H., Jammeh, E., Sun, L., and Ifeakor, E. (2018). Complexity measures for quantifying changes in electroencephalogram in Alzheimer's disease. *Complexity*, 2018:1–12.
- Albert, M. S., DeKosky, S. T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H. H., Fox, N. C., Gamst, A., Holtzman, D. M., Jagust, W. J., Petersen, R. C., et al. (2011). 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. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3):270–279.
- Alzheimer's Association (2021). 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 17(3):327–406.
- Amjad, I., Toor, H., Niazi, I. K., Afzal, H., Jochumsen, M., Shafique, M., Allen, K., Haavik, H., and Ahmed, T. (2019). Therapeutic effects of aerobic exercise on EEG parameters and higher cognitive functions in mild cognitive impairment patients. *International Journal of Neuroscience*, 129(6):551–562.
- Ashford, J. W. (2019). Treatment of Alzheimer's disease: Trazodone, sleep, serotonin, norepinephrine, and future directions. *Journal of Alzheimer's Disease*, 67(3):923–930.
- Babiloni, C., Hanoğlu, L., Yener, G., Lopez, S., Emek-Savaş, D. D., Pievani, M., Vacca, L., Buttinelli, C., D'Antonio, F., Garn, H., et al. (2018). Abnormalities of resting state cortical EEG rhythms in subjects with mild cognitive impairment due to Alzheimer's and Lewy Body diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 62(1):247–268.
- Bachiller, A. (2012). Análisis de la señal de electroencefalograma mediante distancias espectrales para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Valladolid.
- Bairagi, V. (2018). EEG signal analysis for early diagnosis of Alzheimer disease using spectral and wavelet based features. *International Journal of Information Technology (Singapore)*, 10(3):403–412.

- Baumgart, M., Snyder, H. M., Carrillo, M. C., Fazio, S., Kim, H., and Johns, H. (2015). Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimer's & Dementia*, 11(6):718–726.
- Bellenguez, C., Grenier-Boley, B., and Lambert, J. C. (2020). Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going. *Current Opinion in Neurobiology*, 61:40–48.
- Benwell, C. S., Davila-Pérez, P., Fried, P. J., Jones, R. N., Trivison, T. G., Santarnecchi, E., Pascual-Leone, A., and Shafi, M. M. (2020). EEG spectral power abnormalities and their relationship with cognitive dysfunction in patients with Alzheimer's disease and type 2 diabetes. *Neurobiology of Aging*, 85:83–95.
- Bettens, K., Sleegers, K., and Van Broeckhoven, C. (2013). Genetic insights in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 12(1):92–104.
- Blennow, K., Leon, M. J. D., and Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 368:387–403.
- Bondi, M. W., Edmonds, E. C., and Salmon, D. P. (2017). Alzheimer's disease: Past, present, and future. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 23(9-10):818–831.
- Borsboom, D., Cramer, A. O., Schmittmann, V. D., Epskamp, S., and Waldorp, L. J. (2011). The small world of psychopathology. *PLoS ONE*, 6(11).
- Briels, C. T., Briels, C. T., Schoonhoven, D. N., Schoonhoven, D. N., Stam, C. J., De Waal, H., Scheltens, P., and Gouw, A. A. (2020). Reproducibility of EEG functional connectivity in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research and Therapy*, 12(1):1–14.
- Bronzino, J. D. (2006). *The biomedical engineering book. medical devices and systems*. CRC Press.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., and Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(6):407–420.
- Calero, M., Rostagno, A., Matsubara, E., Zlokovic, B., Frangione, B., and Ghiso, J. (2000). Apolipoprotein J (Clusterin) and Alzheimer's disease. *Microscopy Research and Technique*, 50:305–315.
- Campion, D., Charbonnier, C., and Nicolas, G. (2019). SORL1 genetic variants and Alzheimer disease risk: a literature review and meta-analysis of sequencing data. *Acta Neuropathologica*, 138:173–186.
- Carmona, S., Hardy, J., and Guerreiro, R. (2018). *The genetic landscape of Alzheimer disease*. Elsevier B.V.
- Chen, D., Jiang, J., Lu, J., Wu, P., Zhang, H., Zuo, C., and Shi, K. (2019). Brain network and abnormal hemispheric asymmetry analyses to explore the marginal differences in glucose metabolic distributions among Alzheimer's disease, Parkinson's disease dementia, and Lewy Body dementia. *Frontiers in Neurology*, 10:1–13.
- Choi, J., Ku, B., You, Y. G., Jo, M., Kwon, M., Choi, Y., Jung, S., Ryu, S., Park, E., Go, H., et al. (2019). Resting-state prefrontal EEG biomarkers in correlation with MMSE scores in elderly individuals. *Scientific Reports*, 9(1):1–15.

- Cohen, A. (2006). Biomedical signals: Origin and dynamic characteristics; Frequency-domain analysis. In *The biomedical engineering handbook. Medical devices and systems*. CRC Press.
- Cohen, M. X. (2017). Where does EEG come from and what does it mean? *Trends in Neurosciences*, 40(4):208–218.
- Cummings, J. L., Vinters, H., and Felix, J. (2004). *La neuropsiquiatría de la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas*. Atlas Medical Publishing.
- D’Atri, A., Scarpelli, S., Gorgoni, M., Truglia, I., Lauri, G., Cordone, S., Ferrara, M., Marra, C., Rossini, P. M., and De Gennaro, L. (2021). EEG alterations during wake and sleep in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *iScience*, 24(4):102386.
- Dauwels, J., Srinivasan, K., Ramasubba Reddy, M., Musha, T., Vialatte, F.-B., Latchoumane, C., Jeong, J., and Cichocki, A. (2011). Slowing and loss of complexity in Alzheimer’s EEG: Two sides of the same coin? *International Journal of Alzheimer’s Disease*, 2011:1–10.
- de Haan, W., Pijnenburg, Y. A., Strijers, R. L., van der Made, Y., van der Flier, W. M., Scheltens, P., and Stam, C. J. (2009). Functional neural network analysis in frontotemporal dementia and Alzheimer’s disease using EEG and graph theory. *BMC Neuroscience*, 10:1–12.
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., et al. (2016). Preclinical Alzheimer’s disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer’s & Dementia*, 12(3):292–323.
- Edwards, G. A., Gamez, N., Escobedo, G., Calderon, O., and Moreno-Gonzalez, I. (2019). Modifiable risk factors for Alzheimer’s disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 11:1–18.
- Erzigkeit, H., Lehfeld, H., Peña-Casanova, J., Bieber, F., Yekrangi-Hartmann, C., Rupp, M., Rappard, F., Arnold, K., and Hindmarch, I. (2001). The Bayer-Activities of Daily Living Scale (B-ADL): Results from a validation study in three european countries. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 12(5):348–358.
- Escudero, J., Abásolo, D., Hornero, R., Espino, P., and Lopez, M. (2006). Analysis of electroencephalograms in Alzheimer’s disease patients with multiscale entropy. *Physiological Measurement*, 27:1091–1106.
- Figueroa-Duarte, A. S. and Campbell-araujo, O. A. (2015). La visión de la epilepsia a través de la historia. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora*, 32(2):87–101.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., and McHugh, P. R. (1975). Mini-mental state. *Journal of Psychiatric Research*, 12(3):189–198.
- Gates, K. M., Henry, T., Steinley, D., and Fair, D. A. (2016). A Monte Carlo evaluation of weighted community detection algorithms. *Frontiers in Neuroinformatics*, 10:1–16.
- Gil-Nagel, A., Parra, J., Iriarte, J., and Kanner, A. M. (2002). *Manual de electroencefalografía*. McGraw-Hill/ Interamericana de España.
- Gómez, C., Hornero, R., Abásolo, D., Fernández, A., and Escudero, J. (2009). Analysis of MEG background activity in Alzheimer’s disease using nonlinear methods and ANFIS. *Annals of Biomedical Engineering*, 37(3):586–594.

- Guevara Pérez, M., Hernández González, M., and Sanz Martín, A. (2010). *Programas computacionales para análisis de señales bioeléctricas y evaluación cognoscitiva*. Tesis Doctoral, Universidad de Guadalajara.
- Gutiérrez-De Pablo, V., Gómez, C., Poza, J., Maturana-Candelas, A., Martins, S., Gomes, I., Lopes, A. M., Pinto, N., and Hornero, R. (2020). Relationship between the presence of the ApoE $\epsilon 4$ allele and EEG complexity along the Alzheimer's disease continuum. *Sensors*, 20(14):3849.
- Hu, C., Tao, L., Cao, X., and Chen, L. (2020). The solute carrier transporters and the brain: Physiological and pharmacological implications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15:131–144.
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., et al. (2018). NIA-AA research framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 14(4):535–562.
- Jafari, Z., Kolb, B. E., and Mohajerani, M. H. (2020). Neural oscillations and brain stimulation in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 194:101878.
- Jeong, J. (2004). EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*, 115(7):1490–1505.
- Jimeno, N., Gómez-Pilar, J., Poza, J., Hornero, R., Vogeley, K., Meisenzahl, E., Haidl, T., Rosen, M., Klosterkötter, J., and Schultze-Lutter, F. (2020). Main symptomatic treatment targets in suspected and early psychosis: New insights from network analysis. *Schizophrenia Bulletin*, 46(4):884–895.
- Karch, C. M. and Goate, A. M. (2015). Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biological Psychiatry*, 77(1):43–51.
- Kim, J., Basak, J. M., and Holtzman, D. M. (2009). The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*, 63(3):287–303.
- Kogan, E. A., Korczyn, A. D., Virchovsky, R. G., Klimovizky, S. S., Treves, T. A., and Neufeld, M. Y. (2001). EEG changes during long-term treatment with donepezil in Alzheimer's disease patients. *Journal of Neural Transmission*, 108:1167–1173.
- Lai, M., Demuru, M., Hillebrand, A., and Fraschini, M. (2018). A comparison between scalp- and source-reconstructed EEG networks. *Scientific Reports*, 8(1):12269.
- Li, Q., Wang, B.-L., Sun, F.-R., Li, J.-Q., Cao, X.-P., and Tan, L. (2018). The role of UNC5C in Alzheimer's disease. *Annals of Translational Medicine*, 6(10):178.
- Li, R., Nguyen, T., Potter, T., and Zhang, Y. (2019). Dynamic cortical connectivity alterations associated with Alzheimer's disease: An EEG and fNIRS integration study. *NeuroImage: Clinical*, 21:101622.
- Lioi, G., Cury, C., Perronnet, L., Mano, M., Bannier, E., Lécuyer, A., and Barillot, C. (2020). Simultaneous EEG-fMRI during a neurofeedback task, a brain imaging dataset for multimodal data integration. *Scientific Data*, 7(1):1–15.
- Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Brayne, C., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., Cooper, C., et al. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*, 396:413–446.

- Long, J. M. and Holtzman, D. M. (2019). Alzheimer disease: An update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, 179(2):312–339.
- Macedo, A., Gómez, C., Rebelo, M. Â., Poza, J., Gomes, I., Martins, S., Maturana-Candelas, A., Gutiérrez-de Pablo, V., Durães, L., Sousa, P., et al. (2021). Risk variants in three Alzheimer’s disease genes show association with EEG endophenotypes. *Journal of Alzheimer’s disease*, 80(1):209–223.
- Maestú, F., Cuesta, P., Hasan, O., Fernández, A., Funke, M., and Schulz, P. E. (2019). The importance of the validation of M/EEG with current biomarkers in Alzheimer’s disease. *Frontiers in Human Neuroscience*, 13:1–10.
- Mannan, M. M. N., Kamran, M. A., and Jeong, M. Y. (2018). Identification and removal of physiological artifacts from electroencephalogram signals: A review. *IEEE Access*, 6:30630–30652.
- Marioni, R. E., Harris, S. E., Zhang, Q., McRae, A. F., Hagenaars, S. P., Hill, W. D., Davies, G., Ritchie, C. W., Gale, C. R., Starr, J. M., et al. (2018). GWAS on family history of Alzheimer’s disease. *Translational Psychiatry*, 8(1):1–7.
- Martí, J. (1988). Medidas en el sistema nervioso y muscular. In *Introducción a la Bioingeniería*. Marcombo Boixareu.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., and Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer’s disease: Report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer’s disease. *Neurology*, 34(7):939–944.
- McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack Jr, C. R., Kawas, C. H., Klunk, W. E., Koroshetz, W. J., Manly, J. J., Mayeux, R., et al. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s & Dementia*, 7(3):263–269.
- Michel, C. M. and Brunet, D. (2019). EEG source imaging: A practical review of the analysis steps. *Frontiers in Neurology*, 10:1–18.
- Musaeus, C. S., Engedal, K., Høgh, P., Jelic, V., Mørup, M., Naik, M., Oeksengaard, A. R., Snaedal, J., Wahlund, L. O., Waldemar, G., et al. (2018a). EEG theta power is an early marker of cognitive decline in dementia due to Alzheimer’s disease. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 64(4):1359–1371.
- Musaeus, C. S., Nielsen, M. S., Østerbye, N. N., and Høgh, P. (2018b). Decreased parietal beta power as a sign of disease progression in patients with mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 65(2):475–487.
- Núñez, P., Poza, J., Gómez, C., Rodríguez-González, V., Hillebrand, A., Tewarie, P., Tola-Arribas, M. Á., Cano, M., and Hornero, R. (2021). Abnormal meta-state activation of dynamic brain networks across the Alzheimer spectrum. *NeuroImage*, 232:117898.

- Núñez, P., Poza, J., Gómez, C., Rodríguez-González, V., Hillebrand, A., Tola-Arribas, M. A., Cano, M., and Hornero, R. (2019). Characterizing the fluctuations of dynamic resting-state electrophysiological functional connectivity: Reduced neuronal coupling variability in mild cognitive impairment and dementia due to Alzheimer's disease. *Journal of Neural Engineering*, 16(5):1–14.
- Pandis, N. (2016). The chi-square test. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 150(5):898–899.
- Pascual-Marqui, R. D. (2002). Standardized low-resolution brain electromagnetic tomography (sLORETA): technical details. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 24(Suppl D):5–12.
- Pedersen, A. B., Mikkelsen, E. M., Cronin-Fenton, D., Kristensen, N. R., Pham, T. M., Pedersen, L., and Petersen, I. (2017). Missing data and multiple imputation in clinical epidemiological research. *Clinical Epidemiology*, 9:157–166.
- Petersen, R., Smith, G., Waring, S., Ivnik, R., Tangalos, E., and Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: Clinical characterization and outcome. *Archives of Neurology*, 56:303–308.
- Petersen, R. C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine*, 256(3):183–194.
- Petersen, R. C. (2016). Mild cognitive impairment. *Continuum*, 2(2):404–418.
- Ponomareva, N., Andreeva, T., Protasova, M., Konovalov, R., Krotenkova, M., Malina, D., Mitrofanov, A., Fokin, V., Illarioshkin, S., and Rogaev, E. (2020). Genetic association between Alzheimer's disease risk variant of the PICALM gene and EEG functional connectivity in non-demented adults. *Frontiers in Neuroscience*, 14:1–10.
- Ponomareva, N., Andreeva, T., Protasova, M., Shagam, L., Malina, D., Goltsov, A., Fokin, V., Mitrofanov, A., and Rogaev, E. (2013). Age-dependent effect of Alzheimer's risk variant of CLU on EEG alpha rhythm in non-demented adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5:1–10.
- Ponomareva, N. V., Andreeva, T. V., Protasova, M. S., Shagam, L. I., Malina, D. D., Goltsov, A. Y., Fokin, V. F., Illarioshkin, S. N., and Rogaev, E. I. (2017). Quantitative EEG during normal aging: association with the Alzheimer's disease genetic risk variant in PICALM gene. *Neurobiology of Aging*, 51:177.e1–177.e8.
- Poza, J. (2008). *Análisis tiempo-frecuencia de la actividad magnetoencefalográfica espontánea en la enfermedad de Alzheimer*. Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid.
- Poza, J., Gómez, C., Bachiller, A., and Hornero, R. (2012). Spectral and non-linear analyses of spontaneous magnetoencephalographic activity in Alzheimer's disease. *Journal of Healthcare Engineering*, 3(2):299–322.
- Poza, J., Hornero, R., Abásolo, D., Fernández, A., and García, M. (2007). Extraction of spectral based measures from MEG background oscillations in Alzheimer's disease. *Medical Engineering and Physics*, 29(10):1073–1083.
- Poza, J., Hornero, R., Escudero, J., Fernández, A., and Sánchez, C. I. (2008). Regional analysis of spontaneous MEG rhythms in patients with alzheimer's disease using spectral entropies. *Annals of Biomedical Engineering*, 36(1):141–152.

- Rami, L., Molinuevo, J. L., Sanchez-Valle, R., Bosch, B., and Villar, A. (2007). Screening for amnesic mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease with MT (Memory Alteration Test) in the primary care population. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 22(4):294–304.
- Rami, L., Valls-Pedret, C., Bartres-Faz, D., Caprile, C., Sole-Padullés, C., Castellvi, M., Olives, J., Bosch, B., and Molinuevo, J. L. (2011). Cognitive reserve questionnaire. Scores obtained in an elderly healthy population and in one with Alzheimer's disease. *Revista de Neurología*, 52(4):294 – 304.
- Riedel, B. C., Thompson, P. M., and Brinton, R. D. (2016). Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160(1):134–147.
- Rodríguez, V. (2018). Localización de fuentes cerebrales para la caracterización de la demencia debida a la enfermedad de Alzheimer. Trabajo Fin de Máster, Universidad de Valladolid.
- Roses, A., Sundseth, S., Saunders, A., Gottschalk, W., Burns, D., and Lutz, M. (2016). Understanding the genetics of APOE and TOMM40 and role of mitochondrial structure and function in clinical pharmacology of Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, 12:687–694.
- Rubinov, M. and Sporns, O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage*, 52(3):1059–1069.
- Ruiz-Gómez, S. J., Hornero, R., Poza, J., Maturana-Candelas, A., Pinto, N., and Gómez, C. (2019). Computational modeling of the effects of EEG volume conduction on functional connectivity metrics. Application to Alzheimer's disease continuum. *Journal of Neural Engineering*, 16(6):1–14.
- Sabbagh, M. N., Lue, L.-F., Fayard, D., and Shi, J. (2017). Increasing precision of clinical diagnosis of Alzheimer's disease using a combined algorithm incorporating clinical and novel biomarker data. *Neurology and Therapy*, 6(Suppl 1):83–95.
- Sanei, S. and Chambers, J. A. (2007). *EEG Signal Processing*. Wiley.
- Sazgar, M. and Young, M. G. (2019). *Absolute epilepsy and EEG rotation review*. Springer.
- Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., and Van der Flier, W. M. (2016). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 388:505–517.
- Si, S., Wang, B., Liu, X., Yu, C., Ding, C., and Zhao, H. (2019). Brain network modeling Based on mutual information and graph theory for predicting the connection mechanism in the progression of Alzheimer's disease. *Entropy*, 21(3):300.
- Simons, S., Espino, P., and Abásolo, D. (2018). Fuzzy Entropy analysis of the electroencephalogram in patients with Alzheimer's disease: Is the method superior to Sample Entropy? *Entropy*, 20(1):21.
- Song, J., Davey, C., Poulsen, C., Luu, P., Turovets, S., Anderson, E., Li, K., and Tucker, D. (2015). EEG source localization: Sensor density and head surface coverage. *Journal of Neuroscience Methods*, 256:9–21.

- Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., Iwatsubo, T., Jack, C. R., Kaye, J., Montine, T. J., et al. (2011). 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. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3):280–292.
- Stam, C. J. (2010). Use of magnetoencephalography (MEG) to study functional brain networks in neurodegenerative disorders. *Journal of the Neurological Sciences*, 289(1-2):128–134.
- Stam, C. J., Montez, T., Jones, B. F., Rombouts, S. A., Van Der Made, Y., Pijnenburg, Y. A., and Scheltens, P. (2005). Disturbed fluctuations of resting state EEG synchronization in Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*, 116(3):708–715.
- Stern, Y. (2012). Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 11(11):1006–1012.
- Sterne, J. A., White, I. R., Carlin, J. B., Spratt, M., Royston, P., Kenward, M. G., Wood, A. M., and Carpenter, J. R. (2009). Multiple imputation for missing data in epidemiological and clinical research: Potential and pitfalls. *BMJ (Online)*, 339(7713):157–160.
- Storey, J. D. (2002). A direct approach to false discovery rates. *Journal of the Royal Statistical Society*, 64(3):479–498.
- Sun, N., Mormino, E. C., Chen, J., Sabuncu, M. R., and Yeo, B. T. (2019). Multi-modal latent factor exploration of atrophy, cognitive and tau heterogeneity in Alzheimer's disease. *NeuroImage*, 201:116043.
- Tait, L., Tamagnini, F., Stothart, G., Barvas, E., Monaldini, C., Frusciante, R., Volpini, M., Guttmann, S., Coulthard, E., Brown, J. T., et al. (2020). EEG microstate complexity for aiding early diagnosis of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, 10(1):1–10.
- Takeda, S. (2019). Progression of Alzheimer's disease, tau propagation, and its modifiable risk factors. *Neuroscience Research*, 141:36–42.
- Vally, M. and Kathrada, F. (2019). Understanding Alzheimer's disease. *South African Family Practice*, 61(2):28–34.
- Van Buuren, S. and Groothuis-Oudshoorn, K. (2011). mice: Multivariate imputation by chained equations in R. *Journal of Statistical Software*, 45(3):1–67.
- Van den Heuvel, M. P. and Sporns, O. (2013). Network hubs in the human brain. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(12):683–696.
- Varela, F., Lachaux, J. P., Rodriguez, E., and Martinerie, J. (2001). The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration. *Nature Reviews Neuroscience*, 2:229–239.
- Vecchio, F., Miraglia, F., Alù, F., Menna, M., Judica, E., Cotelli, M., and Rossini, P. M. (2020). Classification of Alzheimer's disease with respect to physiological aging with innovative EEG Biomarkers in a Machine Learning implementation. *Journal of Alzheimer's Disease*, 75(4):1339–1349.
- Vecchio, F., Miraglia, F., Iberite, F., Lacidogna, G., Guglielmi, V., Marra, C., Pasqualetti, P., Tiziano, F. D., and Rossini, P. M. (2018). Sustainable method for Alzheimer dementia prediction in mild cognitive impairment: Electroencephalographic connectivity and graph theory combined with apolipoprotein E. *Annals of Neurology*, 84(2):302–314.

- Vijayan, M. and Reddy, P. H. (2016). Stroke, Vascular Dementia, and Alzheimer's Disease: Molecular Links. *Journal of Alzheimer's Disease*, 54(2):427–443.
- Von Stein, A. and Sarnthein, J. (2000). Different frequencies for different scales of cortical integration: From local gamma to long range alpha/theta synchronization. *International Journal of Psychophysiology*, 38:301–313.
- Wang, K. S., Liu, Y., Xu, C., Liu, X., and Luo, X. (2017). Family-based association analysis of NAV2 gene with the risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*, 310:60–65.
- Young, J. E., Boulanger-Weill, J., Williams, D. A., Woodruff, G., Buen, F., Revilla, A. C., Herrera, C., Israel, M. A., Yuan, S. H., Edland, S. D., et al. (2015). Elucidating molecular phenotypes caused by the SORL1 Alzheimer's disease genetic risk factor using human induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 16(4):373–385.
- Yu, M., Engels, M. M., Hillebrand, A., Van Straaten, E. C., Gouw, A. A., Teunissen, C., Van Der Flier, W. M., Scheltens, P., and Stam, C. J. (2017). Selective impairment of hippocampus and posterior hub areas in Alzheimer's disease: An MEG-based multiplex network study. *Brain*, 140(5):1466–1485.
- Zetterberg, H. and Bendlin, B. B. (2020). Biomarkers for Alzheimer's disease—preparing for a new era of disease-modifying therapies. *Molecular Psychiatry*, 26(1):296–308.
- Zhu, X. C., Dai, W. Z., and Ma, T. (2020). Impacts of CR1 genetic variants on cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers in alzheimer's disease. *BMC Medical Genetics*, 21(1):1–8.