

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES

TRABAJO DE FIN DE GRADO
GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

**Estudio de la asociación entre alteraciones de la
secuencia de micro-ARN y de la actividad eléctrica cerebral
a lo largo del continuo de la enfermedad del Alzheimer**

Autor:

D. Sergio Manso Coloma

Tutores:

**D. Carlos Gómez Peña
D. Aarón Maturana Candelas**

Valladolid, julio de
2024

TÍTULO:

Estudio de la asociación entre alteraciones de la secuencia de micro-ARN y de la actividad eléctrica cerebral a lo largo del continuo de la enfermedad de Alzheimer.

AUTOR/A:

D. Sergio Manso Coloma

TUTOR/A:

**D. Carlos Gómez Peña
D. Aarón Maturana Candelas**

DEPARTAMENTO:

Teoría de la Señal y las Comunicaciones e Ingeniería Telemática

TRIBUNAL

PRESIDENTE:

D. Jesús Poza Crespo

SECRETARIO:

D. Javier Gómez Pilar

VOCAL:

D. Carlos Gómez Peña

SUPLENTE 1:

D^a. María García Gadañón

SUPLENTE 2:

D. Roberto Hornero Sánchez

FECHA: **Julio de 2024**

CALIFICACIÓN:

Agradecimientos

Para comenzar, me gustaría agradecer a mis tutores Carlos Gómez Peña y Aarón Maturana Candelas por darme la oportunidad de realizar este trabajo con ellos. Vuestro apoyo constante durante el día a día ha sido clave para la realización del TFG y para mi desarrollo como profesional. Por todo esto y mucho más, gracias. También me gustaría agradecer al grupo de Ingeniería Biomédica (GIB), por todo lo que he aprendido con ellos y por su apoyo a lo largo de este proceso, sin olvidar las risas en los descansos del café.

A mi familia, principalmente a mis padres, por su apoyo incondicional, por enseñarme el valor del esfuerzo y por la educación y valores que me han enseñado. También a mi hermana, que me da la seguridad de saber que siempre puedo contar con ella para todo lo que necesite. Además, me gustaría agradecer a mis abuelos Santiago, Eusebio y a mis abuelas Maruja y Carmina, por todo lo que me han enseñado, pues ellos han acumulado la sabiduría que solo el tiempo y la experiencia pueden otorgar.

A mis amigos del colegio, de la universidad, de Villanueva y del equipo de baloncesto de la Uva. Especialmente a Marcos, Álvaro, Patri y Fernando. Por los buenos momentos que me han brindado y por el apoyo que he recibido de su parte durante la carrera y la realización de este trabajo.

A Inés, por su apoyo constante todos los días, por tratar de entenderme y ayudarme a seguir en los momentos más complicados. Gracias a su alegría, generosidad, cariño, entusiasmo, empatía y atención todo esto ha sido mucho más sencillo y llevadero. Por tu forma ser, de trabajar y de afrontar los problemas eres una inspiración para mí, que a partir de ahora todo sean buenas nuevas...

Gracias a todos,
Sergio

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que provoca déficits de memoria, deterioro cognitivo, cambios en el comportamiento y en el funcionamiento del organismo. Es la causa más común de demencia en todo el mundo, supone un gran coste económico para la sociedad y tiene un gran impacto tanto para el paciente como para sus familiares. Esta enfermedad se caracteriza por presentar disrupciones en la conectividad neuronal, siendo considerada un síndrome de desconexión. Estas anomalías pueden ser estudiadas mediante el electroencefalograma (EEG). El EEG es una técnica de registro de actividad eléctrica cerebral que capta las variaciones del campo eléctrico generado en el córtex mediante electrodos colocados en el cuero cabelludo. Uno de los factores de riesgo más importantes de la EA es la genética, donde toman un papel relevante los micro-ARN, un tipo de ácido ribonucleico (ARN) que puede regular múltiples vías metabólicas. Es de especial relevancia el estudio de los micro-ARNs que regulan vías inmunomodulatorias, ya que una alteración de estos puede contribuir tanto al desarrollo como a la protección frente a la EA. Estas alteraciones de los micro-ARN suelen ocurrir debido a la presencia de un polimorfismo de nucleótido único (SNP), variaciones de un solo nucleótido en la secuencia de referencia. Estas variaciones genéticas pueden afectar a la función del micro-ARN que alteran y predisponer al individuo que la porta a desarrollar la EA. También se han estudiado las alteraciones en la conectividad cerebral sometido a procesos inflamatorios. Por ello estudiar el impacto de los procesos que regulan estos mecanismos en la conectividad funcional a lo largo del progreso de la EA es de especial relevancia. El objetivo de este Trabajo Fin de Grado (TFG) es comprobar la influencia de variantes genéticas relacionadas con micro-ARN dedicadas a procesos de inmunomodulación en los valores de conectividad funcional a lo largo de la EA. Para ello se utilizó una base de datos de registros de EEG de sujetos en cinco diferentes etapas de la enfermedad: control (HC), deterioro cognitivo leve (DCL), Alzheimer leve (ADMILD), Alzheimer moderado (ADMOD) y Alzheimer severo (ADSEV). La conectividad funcional cerebral se calculó mediante el Phase Lag Index (PLI). Los resultados revelaron diferencias significativas entre los valores de PLI de los sujetos que portaban las variantes genéticas en los SNPs rs2910164 y rs1625579. Al analizar una banda amplia de frecuencia (1-70 Hz), las diferencias de conectividad funcional son estadísticamente significativas en sujetos HC y DCL, pero no en

las etapas ADMILD, ADMOD y ADSEV. Además, se observaron diferencias en la banda alfa de los sujetos HC, en las bandas beta y gamma del estadio DCL y en la banda gamma de los sujetos ADMILD. En resumen, podemos concluir que existen diferencias significativas en los valores de conectividad funcional entre sujetos portadores de un alelo de riesgo y un alelo protector de dos variantes de micro-ARN relacionados con la inmunomodulación a lo largo de la EA.

Palabras clave

Enfermedad de Alzheimer, electroencefalografía, genética, polimorfismo de nucleótido único, inmunomodulación, deterioro cognitivo leve.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that causes memory deficits, cognitive impairment, changes in behavior, and disruptions in bodily functions. It is the most common cause of dementia worldwide, entails significant economic costs for society, and has a substantial impact on both patients and their families. This disease is characterized by disruptions in neuronal connectivity, being considered a disconnection syndrome. These anomalies can be studied through electroencephalography (EEG). EEG is a technique for recording brain electrical activity that captures variations in the electrical field generated in the cortex through electrodes placed on the scalp. One of the most important risk factors for AD is genetics, where microRNAs, a type of ribonucleic acid (RNA) that can regulate multiple metabolic pathways, play a significant role. The study of microRNAs that regulate immunomodulatory pathways is particularly relevant, as alterations in these can contribute both to the development and protection against AD. These microRNA alterations often occur due to the presence of a single nucleotide polymorphism (SNP), variations of a single nucleotide in the reference sequence. These genetic variations can affect the function of the microRNA they alter and predispose the individual carrying them to develop AD. Alterations in brain connectivity subjected to inflammatory processes have also been studied. Therefore, studying the impact of processes that regulate these mechanisms on functional connectivity throughout the progression of AD is especially relevant. The objective of this Bachelor's Thesis (TFG) is to examine the influence of genetic variants related to microRNAs involved in immunomodulation processes on functional connectivity values throughout AD. For this purpose, a database of EEG recordings from patients in five different stages of the disease was used: healthy controls (HC), mild cognitive impairment (MCI), mild Alzheimer (ADMILD), moderate Alzheimer (ADMOD), and severe Alzheimer (ADSEV). Brain functional connectivity was calculated using the Phase Lag Index (PLI). The results revealed significant differences between the PLI values of subjects carrying genetic variants in the SNPs rs2910164 and rs1625579. When a wide frequency band (1-70 Hz) is analyzed, these functional connectivity differences are statistically significant in HC and MCI subjects, but no in the ADMILD, ADMOD, and ADSEV stages. Additionally, statistically significant differences were observed in the alpha band for HC subjects, in the beta and gamma bands for the MCI stage, and in the gamma band for ADMILD patients. To sum up, we can conclude that significant

differences have been observed in functional connectivity values between subjects carrying a risk allele and a protective allele of two microRNA variants related to immunomodulation throughout the progression of AD.

Keywords

Alzheimer's disease, electroencephalography, genetics, single nucleotide polymorphism, immunomodulation, mild cognitive impairment.

Índice general

Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Enfermedad del Alzheimer	1
1.2 Actividad cerebral: EEG	2
1.3 Genética: Inmunomodulación	3
1.4 Motivación	4
1.5 Hipótesis	4
1.6 Objetivos	5
1.7 Descripción del documento	5
Capítulo 2. Enfermedad del Alzheimer	8
2.1 Introducción	8
2.2 Evolución y sintomatología	10
2.3 Factores de riesgo	10
2.4 Diagnóstico	12
Capítulo 3. Análisis genético.....	15
3.1 Introducción	15
3.2 Polimorfismos de nucleótido único	15
3.3 Análisis genético de la EA	16
3.4 Inmunomodulación	17
Capítulo 4. Electroencefalografía.....	21
4.1 Introducción a la electroencefalografía.....	21
4.2 Neurofisiología	22
4.3 Ritmos fisiológicos de la señal de EEG	23
4.4 Alteraciones del EEG en la EA.....	24
Capítulo 5. Materiales y métodos.....	27
5.1 Introducción	27
5.2 Materiales.....	27
5.2.1 Sujetos	27
5.2.2 Registro del EEG	27
5.3 Métodos	28
5.3.1 Análisis de la dinámica cerebral y de los SNPs.....	28
5.3.2 Análisis estadístico	31
Capítulo 6. Resultados.....	33
Capítulo 7. Discusión y conclusiones	42
7.1 Discusión	42
7.1.1 Diferencias entre genotipos	42
7.1.2 Banda de frecuencia global (1-70 Hz).....	43
7.1.3 Bandas de frecuencia específicas	44
7.2 Limitaciones y líneas futuras	45
7.3 Cumplimiento de los objetivos del trabajo de fin de grado	46
7.4 Conclusiones	47
Bibliografía.....	49
Glosario de siglas y acrónimos	60

Índice de figuras

- Figura 1.** Anatomía macroscópica del cerebro con Alzheimer. La vista lateral de un cerebro con Alzheimer puede mostrar un ensanchamiento de los surcos y un estrechamiento de los giros. Esto puede observarse más fácilmente en secciones coronales, como indican las puntas de flecha, y esta atrofia suele ir acompañada de un agrandamiento de las astas frontales y temporales de los ventrículos laterales, como resaltan las flechas. Además, la pérdida de neuronas pigmentadas en el locus coeruleus se observa comúnmente en el tegmento pontino como se muestra con el círculo abierto. Ninguna de estas características es exclusiva de la EA. Imagen adaptada (Deture & Dickson, 2019). 8
- Figura 2.** Muestra cerebral de las placas A β y ovillos de P-tau. Imagen adaptada (Deture & Dickson, 2019). 9
- Figura 3.** Proceso de diagnóstico de la EA dividido en los siguientes pasos: detectar, evaluar/diferenciar, diagnosticar y tratar. Imagen adaptada (Porsteinsson et al., 2021). 13
- Figura 4.** Los microARN regulan múltiples vías celulares y moleculares relacionadas con la enfermedad de Alzheimer. Imagen adaptada (Walgrave et al., 2021)..... 16
- Figura 5.** a) Potencial de acción en la neurona, b) Generación de PPSE en la corteza cerebral y su registro mediante un electrodo para producir la señal de EEG (Cruz-Rodríguez et al., 2021) 23
- Figura 6.** Ritmos cerebrales presentes en un registro EEG. Imagen adaptada (Jafari et al., 2020). 23
- Figura 7.** Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs2910164. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas..... 35
- Figura 8.** Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs2910164 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo. 36

Índice de figuras

Figura 9. Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs1198588. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas..... 37

Figura 10. Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs1198588 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo. 38

Figura 11. Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs1625579. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas..... 39

Figura 12. Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs1625579 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo. 40

Índice de tablas

Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos de los sujetos participantes en el estudio. Para cada uno de los 3 SNPs (rs1198588, rs1625579 y rs2910164), se indica el número de sujetos que presentan las variantes de riesgo (R) y protectoras (P). DE, desviación estándar.....	30
---	----

Capítulo 1. Introducción

1.1 Enfermedad del Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que provoca déficits de memoria, deterioro cognitivo, cambios en el comportamiento y alteraciones en el funcionamiento cerebral (Alzheimer's Association, 2024). Antes del desencadenamiento de la EA, se produce un estado intermedio conocido como deterioro cognitivo leve (DCL), en el cual se presentan alteraciones en la memoria y en la capacidad de razonamiento, pero no se cumplen los criterios diagnósticos de demencia (Petersen et al., 2008). Con el tiempo, el paciente comienza a desarrollar los primeros síntomas de la enfermedad, como apraxia, afasia y agnosia (Scheltens et al., 2016). Estos síntomas tienden a agravarse, afectando a la capacidad del paciente para realizar tareas cotidianas (Scheltens et al., 2016). En las etapas finales de la enfermedad, el paciente pierde sus habilidades verbales y psicomotoras (Alzheimer's Association, 2024).

La EA se puede clasificar en dos tipos en función del momento de manifestación de síntomas: EA de aparición temprana, antes de los 65 años, y EA de aparición tardía, después de los 65 años (Koedam et al., 2010). Las anomalías genéticas que inducen la EA de aparición temprana están en su mayoría comprendidas debido a que este subtipo está fuertemente influenciado por factores genéticos, presentando una heredabilidad de entre un 92% y un 100% (Cacace et al., 2016). Por el contrario, las anomalías genéticas que inducen la EA de aparición tardía están menos estudiadas, ya que se trata de un trastorno complejo con una etiología heterogénea (Cacace et al., 2016). La EA de aparición tardía es la presentación más común de esta enfermedad (Zhu, Tan, et al., 2015). Varios estudios han demostrado la asociación entre variaciones genéticas y el desarrollo de este subtipo de la enfermedad (Lambert et al., 2013). El alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* destaca como el factor de riesgo de mayor relevancia asociado con este subtipo (Ridge et al., 2013). No obstante, es necesario seguir investigando en este campo para conocer el impacto que pueden ejercer otras variaciones genéticas en el desarrollo de la EA de aparición tardía.

La EA también se caracteriza por alteraciones en la actividad eléctrica cerebral (Macedo et al., 2021). Esta actividad eléctrica puede ser capturada mediante diferentes técnicas, como el electroencefalograma (EEG) (Ruiz-Gómez et al., 2019). El EEG es sensible a los cambios rápidos y abruptos de los potenciales eléctricos situados en las capas más externas del córtex (Sanei & Chambers, 2013). Esta técnica ha sido ampliamente utilizada para estudiar las alteraciones de la actividad eléctrica cerebral bajo una amplia variedad de patologías (Lenartowicz & Loo, 2014; Smith & Smith, 2005). En el caso de la EA, una de las alteraciones más características que se observan en el EEG son los cambios en la conectividad funcional (Briels et al., 2020). La conectividad funcional describe asociaciones estadísticas entre las secuencias temporales de valores de potencial eléctrico entre diferentes regiones cerebrales (Briels et al., 2020). La EA se

considera un síndrome de desconexión, mostrando una menor conectividad funcional a medida que progresa (Briels et al., 2020).

1.2 Actividad cerebral: EEG

La actividad eléctrica cerebral se produce por la transmisión de potenciales de acción entre neuronas. Los potenciales de acción se originan por un intercambio iónico en la dirección marcada por el gradiente a través de la membrana celular (Sanei & Chambers, 2013). Estos producen una despolarización de la neurona que viaja a través del axón neuronal, presentando normalmente una conducción unidireccional (Sanei & Chambers, 2013). Si el potencial de acción produce una sinapsis excitatoria o inhibitoria se produce un potencial postsináptico excitatorio o inhibitorio respectivamente en la siguiente neurona (Sanei & Chambers, 2013).

El EEG es una técnica de registro de actividad eléctrica cerebral que capta las fluctuaciones del campo eléctrico generado en el córtex mediante electrodos colocados en el cuero cabelludo. Estos campos eléctricos son mayormente producidos por potenciales postsinápticos que suceden simultáneamente durante la excitación e inhibición sináptica de millones de neuronas piramidales en el córtex cerebral (Cohen, 2017). Actualmente, el EEG es una herramienta ampliamente utilizada en una gran variedad de campos que abarcan desde la neurociencia y la psicología hasta la ciencia cognitiva y las investigaciones psicofisiológicas (Mannan et al., 2018). El estudio de esta señal ha contribuido a comprender la complejidad de los trastornos acontecidos por la EA, así como a su diagnóstico y diferenciación de otras patologías cerebrales (Ouchani et al., 2021).

Uno de los elementos característicos de la EA son las interrupciones de conexión neuronal (Briels et al., 2020). Por este motivo, la EA es considerada como un síndrome de desconexión (Briels et al., 2020). Como se ha sugerido previamente, estas anomalías se ven reflejadas en cambios de conectividad funcional, lo cual puede ser estudiado mediante el EEG (Briels et al., 2020). Las medidas de conectividad funcional se han empleado en múltiples estudios para comparar las diferencias de la actividad eléctrica cerebral en las diferentes fases de la neurodegeneración producida por la EA (Briels et al., 2020). Gracias a estos estudios, se ha observado una reducción en la coherencia y la *amplitude envelope correlation* (AEC) en las bandas alfa y beta, y un incremento de AEC en la banda zeta (Briels et al., 2020; Núñez et al., 2019). Otros estudios observaron reducciones significativas del *phase lag index* (PLI) en las bandas delta, alfa, beta y gamma en los pacientes con EA respecto de sujetos sanos (Hata et al., 2016; Nobukawa et al., 2020).

1.3 Genética: Inmunomodulación

La genética es la rama de la biología que se ocupa del estudio de la herencia, incluyendo la interrelación de los genes, la variación en el ácido desoxirribonucleico (ADN) y sus interacciones con factores ambientales (Tanzi, 2012). Las anomalías en la secuencia genética de un individuo pueden provocar alteraciones del sistema nervioso que acaben derivando en enfermedades neurodegenerativas (Macedo et al., 2021). En el caso de la EA de aparición tardía, el componente hereditario supone un factor de riesgo significativo, ya que desde principios de la década de 1990 se conoce que portar el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* conlleva un mayor riesgo de padecer la enfermedad (Belloy et al., 2019). Posteriormente, varios estudios han demostrado la existencia de otras variaciones genéticas en el desarrollo de este subtipo de la enfermedad, por ejemplo, la región HLA-DRB5–DRB1, previamente asociada al riesgo de desarrollar Parkinson y esclerosis múltiple, el gen *SORL1*, directamente relacionado con el metabolismo de la proteína beta-amiloide, el gen *PTK2B*, que codifica la proteína tirosina quinasa o el gen *SLC24A4*, asociado al intercambiador de sodio potasio (Lambert et al., 2013).

La existencia de numerosas alteraciones genéticas asociadas a la EA como factores de riesgo sugiere la importancia de incidir en la investigación en este campo. De hecho, el estudio del ácido ribonucleico (ARN) ha cobrado una gran relevancia en los últimos años (Rybak-Wolf et al., 2021). El ARN es una estructura molecular presente en todas las células vivas que es similar estructuralmente al ADN. Sin embargo, a diferencia de este, el ARN es monocatenario y presenta uracilo en lugar de timina en sus bases nitrogenadas (Brosius et al., 2016). El ARN tienen unas tasas de mutación mucho mayores que el ADN; esto se correlaciona con una mayor capacidad de originar mutaciones dañinas, lo que amplía la posibilidad de hallar cascadas moleculares alteradas que originen enfermedades (Peck & Lauring, 2018).

Los micro-ARN son un tipo de ARN que se encuentra en las células y en la sangre (Walgrave et al., 2021). Estas estructuras genéticas son de un tamaño menor en comparación con otros tipos de ARN y son capaces inducir un silenciamiento postranscripcional de genes al unirse a los ARN mensajeros (ARNm) para impedirles su transcripción de proteínas (Walgrave et al., 2021). Los micro-ARN regulan diversas vías celulares y moleculares relacionadas con la EA, de manera que son empleados como biomarcadores de esta enfermedad (Swarbrick et al., 2019). El estudio de los micro-ARN es especialmente adecuado para hallar mutaciones dañinas y estudiar su comportamiento y afectación en diversas cascadas y vías celulares (Walgrave et al., 2021). En el cerebro sano, los micro-ARN pueden mantener la homeostasis a través de la regulación negativa de dianas moleculares en las vías neuronales e inmunitarias; por el contrario, en el cerebro con Alzheimer, los micro-ARN están desregulados, lo que repercute en las cascadas celulares y moleculares que intervienen en los endofenotipos de la EA (Walgrave et al., 2021).

La inmunomodulación es el cambio en el sistema inmunitario del cuerpo causado por sustancias que activan o debilitan su función (Gea-Banacloche, 2006). Estos cambios pueden producir una respuesta inmunitaria controlada frente a una alteración de la homeostasis (Strzelec et al., 2023). Sin embargo, una respuesta inmune exagerada puede ser causante de múltiples enfermedades (Heneka et al., 2015). La función dedicada a regular estos procesos de inmunidad se denomina inmunomodulación, y en ella están implicados múltiples micro-ARN. Por ejemplo, el miR-146a tiene efectos inmunosupresores, ya que es un regulador negativo de varias células inmunitarias (Jeker & Marone, 2015). En cambio, la presencia del miR-17-92 podría servir como adyuvante durante la inmunización (Jeker & Marone, 2015). Las desregulaciones de estos micro-ARN inmunomodulatorios pueden ejercer una regulación positiva o negativa en la neuroinflamación cerebral (Hong et al., 2018). Esta surge como una respuesta protectora por parte del organismo frente a una lesión o infección (Maccioni et al., 2009); sin embargo, una respuesta neuroinflamatoria inadecuada puede contribuir al desarrollo de la EA (Hong et al., 2018).

En consecuencia, es interesante estudiar las alteraciones en los micro-ARN inmunomodulatorios, ya que estas variaciones genéticas pueden afectar a la función del micro-ARN que alteran y predisponer al individuo que la porta a desarrollar neuroinflamación cerebral, un proceso que contribuye al desarrollo de la EA (Hong et al., 2018; Maccioni et al., 2009; Rabaneda-Bueno et al., 2021)

1.4 Motivación

La señal EEG es útil para comprender las alteraciones, que pueden deberse a multitud de factores, en el funcionamiento cerebral (Cohen, 2017). Por otra parte, se ha demostrado la existencia de variaciones en la secuencia de micro-ARN relacionadas con la inmunomodulación, que predisponen a la persona portadora a desarrollar el fenotipo de la EA (Walgrave et al., 2021). Además, estudios previos sugieren que las alteraciones en los procesos inmunomodulatorios están relacionadas con una disrupción en la actividad eléctrica cerebral (Popadynets' et al., 2020). En base a esta evidencia, el presente trabajo pretende averiguar el impacto de la genética en patrones de conectividad cerebral a lo largo del continuo de la EA.

1.5 Hipótesis

Existe evidencia de que, a nivel biológico, alteraciones en la secuencia de micro-ARN inmunomodulatorios pueden contribuir al desarrollo de la EA. Estas alteraciones pueden generar un impacto en el funcionamiento del cerebro, el cuál puede ser analizado a través del EEG. Además, estudios previos han observado que las alteraciones de los procesos inmunomodulatorios pueden originar disrupciones en la conectividad cerebral funcional. Por tanto, el presente Trabajo Fin de Grado (TFG) plantea como hipótesis de trabajo que **existe una asociación entre las alteraciones de la secuencia de micro-ARN y cambios en los patrones de conectividad a lo largo del continuo de la EA.**

1.6 Objetivos

El objetivo principal de este TFG es **analizar cambios en los patrones de conectividad funcional en sujetos portadores de diversas variantes de micro-ARN relacionadas con la inmunomodulación a lo largo de la EA**. Para lograrlo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- i. Revisión del estado del arte sobre la EA, micro-ARN y variaciones genéticas asociadas a la inmunomodulación genética de la EA y el uso del EEG en el estudio de la EA.
- ii. Analizar la base de datos proporcionada y realizar una búsqueda sobre variaciones genéticas en micro-ARN inmunomodulatorios.
- iii. Verificar la presencia de las variaciones encontradas en la base de datos.
- iv. Implementar métodos de conectividad funcional.
- v. Llevar a cabo una recopilación y análisis de los resultados que permita extraer conclusiones acerca de la relación entre la conectividad funcional de los distintos genotipos a lo largo del continuo de la EA.
- vi. Extraer conclusiones sólidas en forma de interpretaciones fisiológicas de los resultados obtenidos, así como plantear limitaciones y futuras líneas de investigación.

1.7 Descripción del documento

Este apartado define la estructura del presente TFG, el cual consta de 7 capítulos. A continuación, se enumeran y describen brevemente cada uno de ellos.

- **Capítulo 1. Introducción.** Se introduce la EA, la actividad cerebral y el análisis genético llevado a cabo. También incluye la motivación, hipótesis y objetivos a alcanzar del trabajo.
- **Capítulo 2. Enfermedad del Alzheimer.** Se describe la EA en detalle, su evolución y sintomatología. Además, se explican los factores de riesgo característicos de esta enfermedad, así como su diagnóstico.
- **Capítulo 3. Análisis genético.** Se explican las variantes genéticas, se presenta el análisis genético en la EA y se relaciona con la inmunomodulación genética.
- **Capítulo 4. Electroencefalografía.** Se introduce la electroencefalografía, su neurofisiología y las alteraciones del EEG que caracterizan a la EA.

- **Capítulo 5. Materiales y métodos.** Se realiza una descripción detallada del estudio llevado a cabo. Se introducen las técnicas de conectividad y se describen los análisis estadísticos empleados.
- **Capítulo 6. Resultados.** Se presentan los resultados obtenidos. Las distribuciones espaciales de los parámetros extraídos son representadas, así como las diferencias significativas obtenidas entre grupos genéticos.
- **Capítulo 7. Discusión y conclusiones.** Se interpretan los resultados obtenidos a nivel biológico, respaldándose con artículos y otros trabajos. También se evalúan los objetivos alcanzados y se describen las limitaciones y posibles líneas de investigación futuras. Por último, se extraen conclusiones a partir de los resultados obtenidos.

Capítulo 2. Enfermedad del Alzheimer

2.1 Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad de carácter neurodegenerativo que ataca al sistema nervioso central (SNC), provocando déficits de memoria, deterioro cognitivo, cambios en el comportamiento y en el funcionamiento del organismo (Deture & Dickson, 2019). Esta enfermedad fue descrita por primera vez por el neuropatólogo alemán Aloysius ‘Alöis’ Alzheimer en 1907 (Bondi et al., 2017). Hoy en día, es la causa más común de demencia en todo el mundo, pudiendo representar entre un 60% y un 70% de los casos (Llibre-Rodriguez et al., 2022). La prevalencia de esta enfermedad está estrechamente relacionada con la edad, presentándose en alrededor de un 1% de personas con 60 años y aumentando hasta el 30% en personas mayores de 65 años (Scheltens et al., 2016).

A nivel macroscópico, el cerebro con EA presenta una atrofia cortical moderada, más acentuada en las cortezas de asociación multimodal y en las estructuras del lóbulo límbico (Deture & Dickson, 2019). Las cortezas temporal y frontal presentan surcos agrandados con atrofia de los giros, mientras que las cortezas motora y primaria no suelen verse afectadas (Deture & Dickson, 2019). Como resultado de la atrofia se produce un agrandamiento de los cuernos frontales y temporales de los ventrículos laterales y se observa una disminución del peso cerebral en la mayoría de los individuos afectados (Deture & Dickson, 2019). También se produce una atrofia temporal medial que afecta a la amígdala y al hipocampo, generalmente acompañada de un agrandamiento del asta temporal. Otra característica macroscópica comúnmente observada en la EA es la pérdida de pigmentación neuromelanínica en el locus coeruleus (Serrano-Pozo et al., 2011). La anatomía macroscópica de un cerebro con EA se presenta a continuación en la figura 1.

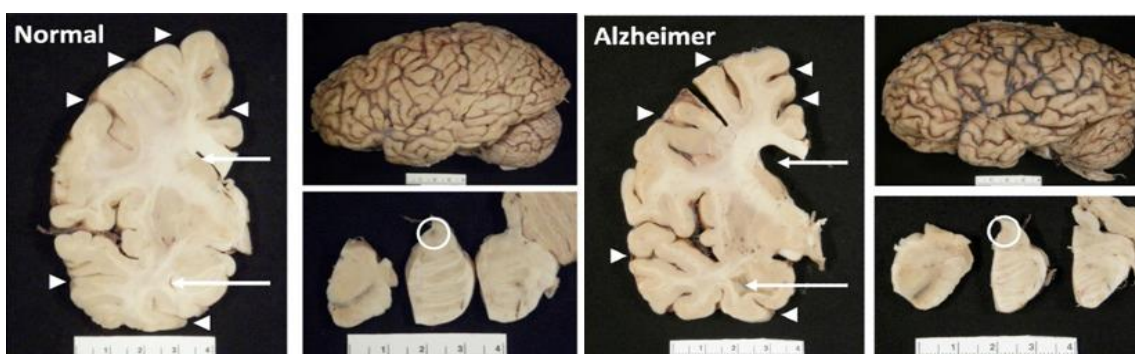


Figura 1. Anatomía macroscópica del cerebro con Alzheimer. La vista lateral de un cerebro con Alzheimer puede mostrar un ensanchamiento de los surcos y un estrechamiento de los giros. Esto puede observarse más fácilmente en secciones coronales, como indican las puntas de flecha, y esta atrofia suele ir acompañada de un agrandamiento de las astas frontales y temporales de los ventrículos laterales, como resaltan las flechas. Además, la pérdida de neuronas pigmentadas en el locus coeruleus se observa comúnmente en el tegmento pontino como se muestra con el círculo abierto. Ninguna de estas características es exclusiva de la EA. Imagen adaptada (Deture & Dickson, 2019).

A nivel microscópico hay una estrecha correlación entre el grado de demencia y la densidad de dos estructuras anormales, las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (Alzheimer's Association, 2024). Las placas seniles son depósitos de un fragmento de proteína llamado beta-amiloide ($A\beta$) que se acumula en los espacios entre neuronas, provocando lesiones extracelulares (Alzheimer's Association, 2024); estas estructuras pueden depositarse en las paredes de los capilares, las arterias y arteriolas, causando degeneración vascular e irrumpiendo el flujo sanguíneo (Silva et al., 2019). Los ovillos son acumulaciones de fibras retorcidas de otra proteína llamada tau que se encuentra hiperfosforilada (P-tau) y se acumula dentro de las neuronas (Alzheimer's Association, 2024). El tejido cerebral en estado avanzado de edad presenta en cierto grado estas dos estructuras; sin embargo, estas estructuras se depositan de manera mucho más acentuada en personas que padecen la EA (Pérez Trullen, 2007). En la figura 2 se observa una muestra cerebral de estas dos estructuras.

Actualmente la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos ha aprobado siete fármacos para combatir la EA (Alzheimer's Association, 2024). El aducanumab, donanemab y lecanemab eliminan las placas de $A\beta$ del cerebro, reduciendo el deterioro cognitivo en personas con EA temprana (Alzheimer's Association, 2024). Por otro lado, se encuentran los inhibidores de la enzima colinesterasa (AChEIs) y los antagonistas del N-metil d-aspartato (NDMA) (Breijyeh et al., 2020). Varios procesos fisiológicos destruyen las células productoras de la enzima colinesterasa, reduciendo la transmisión colinérgica a través del cerebro (Breijyeh et al., 2020); los AChEI actúan bloqueando las enzimas de la colinesterasa para que no se descomponga, produciendo un aumento de los niveles de colinesterasa en la hendidura sináptica (Breijyeh et al., 2020). Por otro lado, una sobreactuación del NMDAR desencadena un aumento de los niveles de calcio favoreciendo la muerte celular y la disfunción sináptica (Breijyeh et al., 2020); los antagonistas de NMDAR previenen esta sobreactuación, permitiendo la afluencia de calcio y restaurando su actividad normal (Breijyeh et al., 2020).

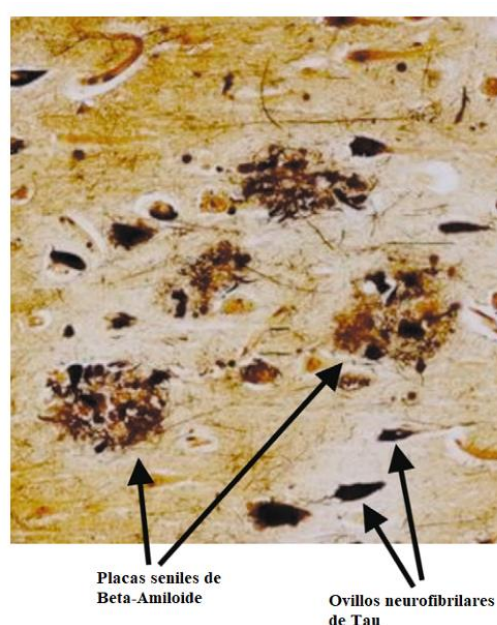


Figura 2. Muestra cerebral de las placas $A\beta$ y ovillos de P-tau. Imagen adaptada (Deture & Dickson, 2019).

2.2 Evolución y sintomatología

Dependiendo de los síntomas y las regiones cerebrales afectadas, se pueden distinguir diferentes etapas de progresión de la EA atendiendo a la severidad del deterioro de las funciones cognitivas. A este proceso se le denomina “continuo de la EA”. Los síntomas iniciales de la EA normalmente están precedidos por una etapa de DCL (Petersen et al., 2008). Esta etapa puede durar varios años; durante su transcurso los sujetos presentan cambios patológicos tempranos en el córtex y el hipocampo (Breijyeh et al., 2020), además de un deterioro cognitivo mayor que el esperado para una persona de su edad, pero no presentan los síntomas para ser diagnosticados de EA (Petersen et al., 2008). Por ello, el DCL puede ser considerado como una etapa latente de esta enfermedad, ya que en estudios anteriores demuestran que la tasa de conversión de DCL a EA es del 15% al año (Davatzikos et al., 2011), mientras que en sujetos sanos la tasa de conversión es del 1-2% al año (Alzheimer’s Association, 2024).

Las diferentes etapas de la EA fueron definidas en 1982 por el Dr. Barry Reisberg mediante la escala de deterioro global (Reisberg et al., 1982). En el estado menos desarrollado de la EA, conocido como Alzheimer leve (ADMIL), los pacientes disponen de autonomía para desarrollar las tareas diarias, pero presentan diversos síntomas como pérdida de concentración y memoria, desorientación, problemas de lectura y déficits en exámenes clínicos (Maturana-Candelas et al., 2019; Ruiz-Gómez et al., 2019). El estado sucesorio es el conocido como Alzheimer moderado (ADMOD); en esta etapa la enfermedad se extiende a zonas de la corteza cerebral, aumentando la pérdida de memoria y la dificultad para reconocer familiares y amigos (Maturana-Candelas et al., 2019; Ruiz-Gómez et al., 2019). Los pacientes muestran claros déficits para realizar tareas cotidianas, por lo que requieren de cierta ayuda para realizarlas. Por último, acontece la etapa conocida como Alzheimer severo (ADSEV), que implica la propagación de la enfermedad a todo el córtex, con una gran acumulación de placas neuríticas y ovillos neurofibrilares, lo que da lugar a que el paciente pierde la capacidad de responder a estímulos ambientales y de controlar sus propios movimientos (Maturana-Candelas et al., 2019; Ruiz-Gómez et al., 2019).

2.3 Factores de riesgo

La edad constituye el principal factor de riesgo para la EA, dado que la mayoría de las personas que padecen esta enfermedad tienen 65 años o más, y aproximadamente un tercio de las personas mayores de 85 años la padecen (Alzheimer’s Association, 2024). La genética es otro factor de riesgo fundamental. Alrededor de un 70% del riesgo de desarrollar la EA se atribuye a factores genéticos, la mayoría de ellos relacionados con la EA de aparición temprana (Ballard et al., 2011). Hay dos clases de genes que influyen sobre la predisposición de esta enfermedad: los genes de riesgo y los genes deterministas. Los genes de riesgo aumentan la probabilidad de padecer la EA, pero no aseguran que suceda. Hay varios genes que aumentan el riesgo de padecer la EA, como es la apolipoproteína $\epsilon 4$ del gen *APOE*. Los genes deterministas causan directamente la enfermedad, como es el caso de la proteína precursora amiloidea, presenilina-1 y presenilina-2 (Alzheimer’s Association, 2024). Además, varios estudios han demostrado

la implicación de la neuroinflamación en el desarrollo de la EA (Maccioni et al., 2009). Esta respuesta inflamatoria que genera el organismo como respuesta a alteraciones en la homeostasis se caracteriza por la producción de mediadores y cascadas proinflamatorias que generan la activación del sistema inmunitario (Strzelec et al., 2023). Una respuesta inmunitaria adecuada a una alteración de la homeostasis es un mecanismo intencionado y apropiado; sin embargo, una respuesta descontrolada a esta alteración puede contribuir a desarrollar la EA (Maccioni et al., 2009; Strzelec et al., 2023). Por este motivo, las variaciones genéticas inmunomodulatorias que ocasionan alteraciones en esta respuesta inmunitaria suponen un factor de riesgo fundamental para el desarrollo de la EA (Hong et al., 2018; Maccioni et al., 2009).

Además de la edad y la genética, existen un gran número de factores de riesgo adquiridos que predisponen a su portador a desarrollar la EA. Las enfermedades cerebrovasculares como las hemorragias cerebrales, ictus isquémicos en la corteza cerebral, valvulopatías y cambios en la sustancia blanca cerebral, incrementan el riesgo de demencia (Vinícius et al., 2019). Los factores de riesgo vascular conducen a una disfunción en la barrera hematoencefálica, lo que conlleva una reducción del flujo sanguíneo cerebral, disminuyendo el aporte sanguíneo a la región afectada y en consecuencia provocando daño neuronal (Zlokovic, 2011). La hipertensión es un factor capaz de incrementar el riesgo de padecer EA; varios estudios han demostrado que cuando este factor está presente en individuos de mediana edad acaba teniendo una repercusión negativa en edades más avanzadas, de manera que esta asociación se debilita con la edad (Staessen et al., 2007). La hipertensión puede producir cambios en la pared vascular, lo que puede dar lugar a hipoperfusión, hipoxia cerebral o isquemia, contribuyendo así al desarrollo de la EA (Skoog & Gustafson, 2006). La diabetes tipo II está relacionada con el riesgo de padecer EA a razón de múltiples estudios epidemiológicos. Hay varios mecanismos que sugieren esta asociación, entre ellos la resistencia a la insulina, la deficiencia de esta hormona, el deterioro de la función del receptor de insulina, la toxicidad producida por la hiperglucemia y los efectos adversos que producen los productos finales de la glicación avanzada (Li et al., 2015). Estos mecanismos activan vías de muerte celular que inducen la muerte neuronal (Ko et al., 2015). Los niveles altos de colesterol son un factor de riesgo para desarrollar la EA. Varios estudios han demostrado que los individuos con EA presentan un nivel de colesterol un 10% más alto en comparación con pacientes sanos (Xue-Shan et al., 2016). La hipercolesterolemia incrementa este riesgo debido a los efectos anómalos que causa en la barrera hematoencefálica, comprometiendo la integridad de esta y dando lugar a los mecanismos anteriormente comentados (Xue-Shan et al., 2016).

Por último, factores con una implicación menos directa como el estrés y la depresión han demostrado aumentar los niveles de cortisol, una hormona con un nivel elevado en pacientes con la EA (Huang et al., 2009). Los trastornos del sueño y el tabaquismo también han evidenciado aumentar el riesgo de padecer demencia y EA (Durazzo et al., 2014; Shi et al., 2018). Por el contrario, se ha observado que la realización de actividad física habitual reduce en un 45% las probabilidades de desarrollar esta enfermedad (Hamer & Chida, 2009).

2.4 Diagnóstico

La EA no tiene una evaluación única que confirme su diagnóstico. Para diagnosticar esta enfermedad son necesarias evaluaciones médicas exhaustivas, entre ellas: antecedentes médicos detallados, evaluación del estado mental y del humor, examen físico y neurológico, estudios de imágenes cerebrales que permiten descartar síntomas similares a los de la demencia (Alzheimer's Association, 2024) y detección de biomarcadores, que son signos biológicos de la enfermedad que pueden observarse en imágenes del cerebro, análisis de sangre o de líquido cefalorraquídeo (LCR) (Porsteinsson et al., 2021).

El diagnóstico de esta enfermedad comienza con la anamnesis del paciente para recoger posibles antecedentes médicos, además de la revisión de la historia familiar y del paciente. Para la evaluación del estado mental y del humor se realizan pruebas de memoria, solución de problemas, atención, conteo y lenguaje (National Institute on Aging, 2024). Uno de las más comunes es el *Mini Mental State Examination* (MMSE) (Folstein et al., 1975). Para la detección de biomarcadores pueden realizarse análisis de sangre para detectar los niveles de vitamina B12, debido a que la deficiencia de esta origina problemas neurológicos y en consecuencia aumenta el riesgo de padecer EA (Breijyeh et al., 2020). El diagnóstico de la deficiencia de vitamina B12 se lleva a cabo midiendo los niveles de homocisteína sérica, ya que, si estos se encuentran elevados, pueden causar daños cerebrales por estrés oxidativo (Breijyeh et al., 2020). También puede tomarse una muestra de LCR a través de una punción lumbar para medir los niveles de proteínas relacionadas con la enfermedad, como es el caso de la proteína P-tau y la A β (Breijyeh et al., 2020). Los estudios de imágenes cerebrales son una herramienta cada vez más precisa y utilizada para diagnosticar esta enfermedad y detectar biomarcadores. Las señales basadas en neuroimagen como la tomografía computarizada, tomografía por emisión de positrones, resonancia magnética estructural, resonancia magnética funcional e imagen por tensor de difusión realizan un análisis cuantitativo de la degeneración cerebral para obtener una valoración más precisa (Afzal et al., 2021). El proceso de diagnóstico de la EA se muestra en la figura 3.

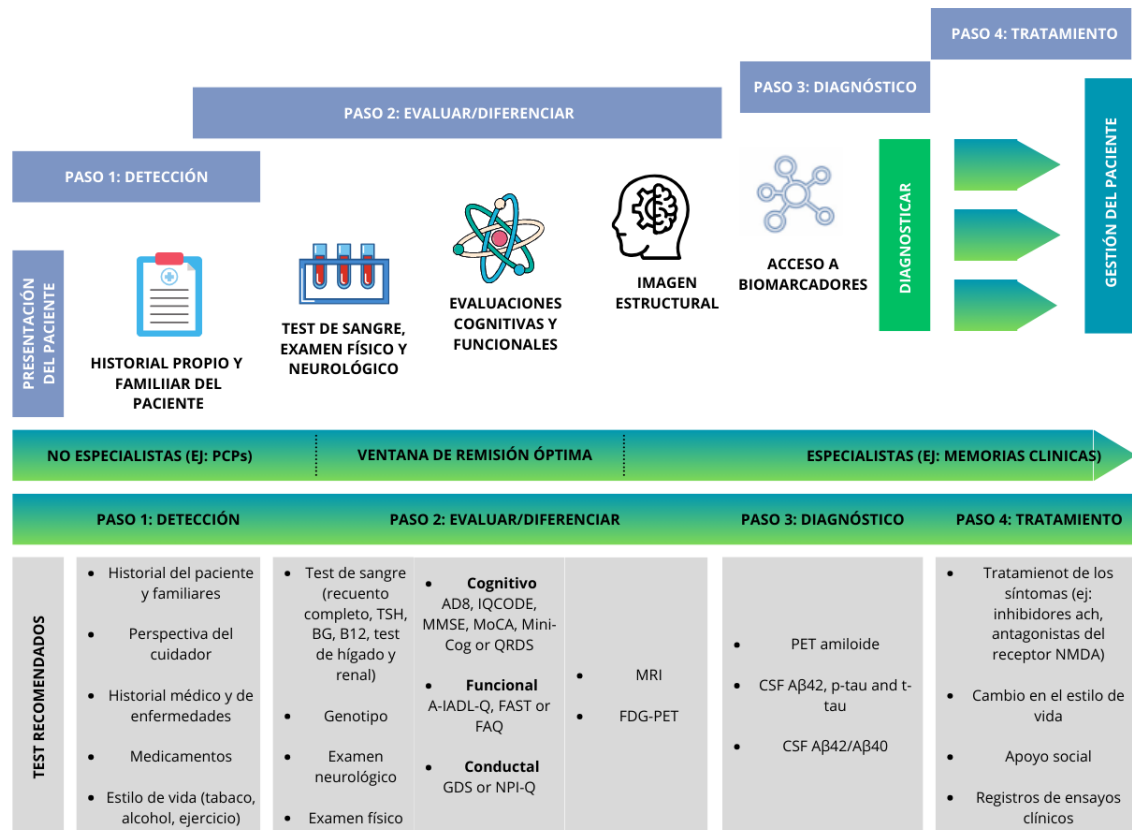


Figura 3. Proceso de diagnóstico de la EA dividido en los siguientes pasos: detectar, evaluar/diferenciar, diagnosticar y tratar. Imagen adaptada (Porsteinsson et al., 2021).

Capítulo 3. Análisis genético

3.1 Introducción

Uno de los principales factores de riesgo en la EA son las variaciones genéticas, puesto que en torno a un 70% del riesgo de desarrollar EA se asocia a este factor de riesgo (Ballard et al., 2011). Mediante el análisis genético de esta enfermedad se han conseguido identificar una serie de variantes que contribuyen a su desarrollo y progresión, por ejemplo, el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE*, el gen *PICALM* o el gen *CLU* entre otros (Lambert et al., 2009, 2013). Cobra especial relevancia el estudio de las variaciones en los micro-ARNs, ya que se ha observado que, en el cerebro con Alzheimer, los micro-ARN están desregulados, lo que repercute en las cascadas celulares y moleculares que intervienen en los endofenotipos de la EA (Walgrave et al., 2021). Además, el estudio de este tipo de variaciones genéticas es especialmente adecuado para hallar mutaciones dañinas y estudiar su comportamiento y afectación en diversas cascadas y vías celulares (Walgrave et al., 2021). En concreto, los últimos estudios han destacado la relevancia de los micro-ARNs inmunomodulatorios en el trascurso de esta enfermedad, debido a que estos pueden inducir una respuesta inmunitaria descontrolada que origine una neuroinflamación cerebral desmedida, un proceso que contribuye directamente en el desarrollo de la EA (Heneka et al., 2015; Maccioni et al., 2009). En este capítulo se pretende mostrar una visión exhaustiva de la genética de esta enfermedad, así como su relación con las variaciones en los procesos de inmunomodulación.

3.2 Polimorfismos de nucleótido único

Un polimorfismo de nucleótido único (SNP) es una variación de un solo nucleótido en la secuencia de referencia. Los SNPs pueden clasificarse en función de la sustitución nucleotídica como transiciones (C/T o G/A) o transversiones (C/G, A/T, C/A o T/G) (Gea-Banacloche, 2006). Debido a que las bases nitrogenadas son la unidad más pequeña del sistema genético, los SNPs representan la forma definitiva de marcador genético molecular. Además, constituyen el tipo de polimorfismo genético más común, ya que el número potencial de marcadores es enorme en comparación con cualquier genotipo de una especie determinada (Edwards et al., 2007). Existe evidencia de que estos SNPs pueden tener una gran influencia en la variación de numerosos micro-ARN (Roy & Mallick, 2017). Particularmente, resulta interesante el estudio de los micro-ARN que alteran redes biológicas relacionadas con la inmunomodulación, ya que las desregulaciones en estos micro-ARN inmunomodulatorios pueden alterar diversas vías celulares que desencadenan la neuroinflamación cerebral, un proceso que contribuye al desarrollo de la EA (Hong et al., 2018; Maccioni et al., 2009). En la figura 4 se muestran múltiples micro-ARNs que guardan relación con la EA.

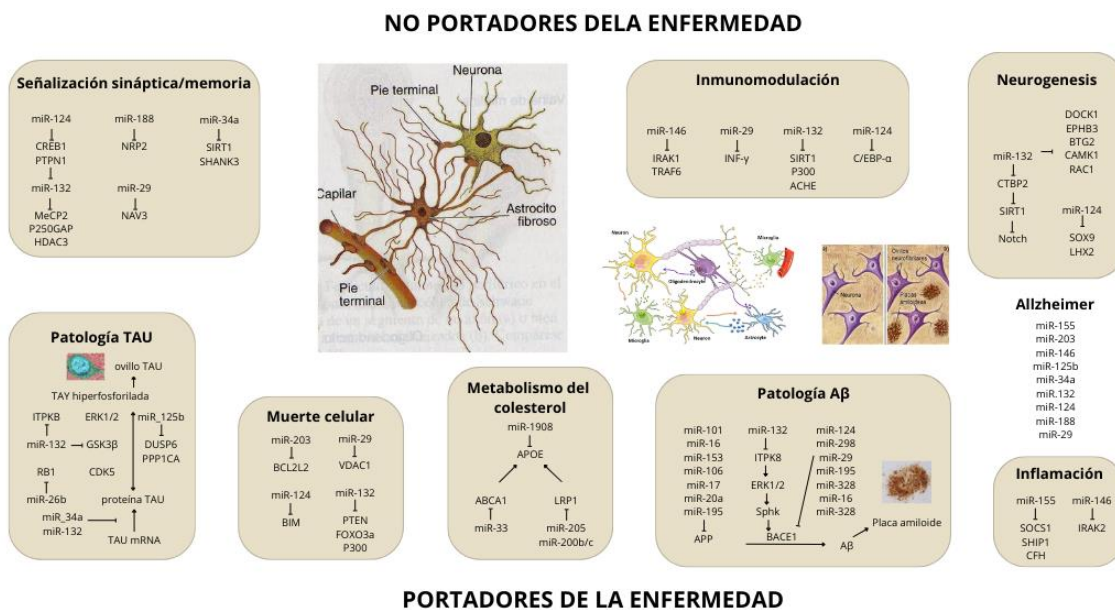


Figura 4. Los microARN regulan múltiples vías celulares y moleculares relacionadas con la enfermedad de Alzheimer. Imagen adaptada (Walgrave et al., 2021).

3.3 Análisis genético de la EA

La genética es un factor de riesgo clave para el desarrollo de la EA. Por este motivo se han desarrollado múltiples técnicas para su estudio, entre la que destacan los estudios de asociación de genoma completo (*Genome-Wide Association Studies*, GWAS). Estos estudios son una herramienta de investigación utilizada para identificar variantes genómicas que están estadísticamente asociadas con un riesgo de desarrollar una enfermedad o un rasgo determinado (Christensen K & Murray JC, 2007). En los últimos años, estos estudios a gran escala y sus metaanálisis con un gran tamaño de muestral han descubierto algunos de los genes susceptibles de desarrollar EA. Entre ellos se encuentra el gen *PICALM*, localizado en el cromosoma 11, que podría estar implicado en el proceso de producción y eliminación del péptido Aβ, ya que este gen está asociado a autofagosomas y se encarga de regular la clatrina y la *adaptor protein complex 2* en las neuronas (Karch & Goate, 2015; Lambert et al., 2013). El gen *CLU* localizado en el cromosoma 8, que realiza la apoptosis programada, protege la membrana celular, transporta lípidos, interacciona con las células y codifica una proteína con su mismo nombre. Además, este gen tiene un papel clave en la alteración de la agregación y/o eliminación de Aβ (Karch & Goate, 2015; Lambert et al., 2009). El gen *APOE*, localizado en el cromosoma 19, es el factor de riesgo genético de mayor asociación con esta enfermedad (Saunders et al., 1993). Se encarga de codificar una proteína transmembrana especialmente presente en los quilomicrones. Estas moléculas contribuyen en el transporte de colesterol entre las células, así como de redistribuir el colesterol intracelular (Karch & Goate, 2015; Riedel et al., 2016). Este gen contiene tres alelos ε2, ε3 y ε4, que se diferencian en un único aminoácido, pero es el alelo ε4 el que provoca un incremento de los niveles de colesterol plasmático, lo que predispone al paciente que lo porta a desarrollar enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Riedel et al., 2016). El gen *CRI* localizado en el cromosoma 1, se expresa principalmente en la membrana de las

células sanguíneas periféricas (Lambert et al., 2009; Zhu, Yu, et al., 2015). Este gen actúa como el principal vehículo para el transporte de complejos inmunes al hígado o bazo, donde son transferidos al sistema fagocítico de los monocitos y eliminados de la circulación (J. C. Lambert et al., 2009; Zhu, Yu, et al., 2015). Se cree que este gen podría actuar desempeñando un papel neuroprotector en la EA (Lambert et al., 2009; Zhu, Yu, et al., 2015). También se han descubierto diversos loci que guardan relación con la EA. Hoy en día, se conocen aproximadamente 75 loci de riesgo de esta enfermedad como PTK2B, SORL1, BIN1, ABCA7, EPHA1 o CELF1, entre otros (Karch & Goate, 2015; Lutz & Chiba-Falek, 2022).

Una de las variantes genéticas más estudiadas gracias a los GWAS son los SNPs (Torrego et al., 2023). La importancia de esta variante genética radica en su estabilidad evolutiva, lo que les convierte en marcadores útiles en los mapeos genéticos para rastrear la herencia de enfermedades genéticas como la EA (Torrego et al., 2023). Resulta interesante el estudio de los SNPs que alteran micro-ARN con funciones inmunomodulatorias, ya que como se ha comentado en secciones anteriores, la alteración de estos micro-ARN puede alterar vías celulares que desencadenan neuroinflamación cerebral, un precursor de la EA (Hong et al., 2018; Maccioni et al., 2009). Por ejemplo, mediante estos estudios se descubrió que el gen TREM2 que actúa como un receptor de superficie microglial, se ve alterado por los SNPs rs75932628 y rs143332484 (Villegas-Llerena et al., 2016). Estos provocan una alteración de las células microgliales, provocando una pérdida de su función y haciendo al individuo que la porta más susceptible de desarrollar la EA (Villegas-Llerena et al., 2016).

3.4 Inmunomodulación

El sistema inmunitario es el responsable de la resistencia a infecciones patógenas y del mantenimiento de la homeostasis del organismo (Strzelec et al., 2023). En este sistema intervienen genes, moléculas, células y órganos organizados en complejas redes de interacciones sinérgicas con el objetivo de combatir diversos tipos de amenazas (Subramanian et al., 2015). Una respuesta inmunitaria adecuada a una alteración de esta homeostasis es un mecanismo apropiado y deliberado (Strzelec et al., 2023). Por el contrario, una respuesta inmunitaria descontrolada puede actuar como un bucle que se retroalimenta positivamente, lo que puede ocasionar graves consecuencias y el desarrollo de diversas enfermedades (Heneka et al., 2015). Estas respuestas descontroladas pueden originarse debido a un proceso inflamatorio crónico o como resultado de una respuesta inmunitaria anormal contra un determinado tipo de células, lo que conduce al desarrollo de enfermedades autoinmunitarias (Strzelec et al., 2023).

Diversas líneas de investigación convergentes han revelado la implicación de la neuroinflamación en el desarrollo de la EA (Maccioni et al., 2009). El término neuroinflamación se utiliza para describir la respuesta inflamatoria que se origina en el SNC tras una lesión o infección (Hong et al., 2018). Las reacciones inmunitarias en el SNC son diferentes a las originadas en el resto del cuerpo humano debido a la presencia de la barrera hematoencefálica, que restringe la entrada de leucocitos en el parénquima

cerebral (Hong et al., 2018). Aunque la neuroinflamación surge como una respuesta protectora por parte del organismo, una respuesta inflamatoria inadecuada podría causar enfermedades neurodegenerativas como la EA (Hong et al., 2018). Esta respuesta inflamatoria se caracteriza por la producción por parte de células huésped de un conjunto de mediadores proinflamatorios, lo que implica la participación del sistema inmunitario y la activación de cascadas inflamatorias (Maccioni et al., 2009).

Las principales células que actúan en el proceso neuroinflamatorio son los astrocitos y las células de la microglía. Las células de la microglía son fagocitos en busca de patógenos o neuronas deterioradas que realizan sus funciones dentro del cerebro. Tienen una función de vigilancia y renovación sináptica, pero bajo condiciones de estrés se activan y se pueden encontrar alrededor de las placas de beta-amiloide y su número aumenta en relación con el daño neuronal (Deture & Dickson, 2019). Los astrocitos tienen función de neuroprotección de neuronas dañadas y en el mantenimiento de la homeostasis del organismo. Estas células realizan una función de apoyo trófico a las neuronas y sinapsis, conectando estas estructuras con el suministro sanguíneo que les proporciona los nutrientes (Deture & Dickson, 2019). Las principales moléculas actuadoras son las quimiocinas, citoquinas y moduladores de la neuroinflamación. Las citoquinas desempeñan un doble papel, ya que favorecen la neurodegeneración o la neuroprotección (Hong et al., 2018).

La inmunomodulación es el cambio en el sistema inmunitario causado por sustancias que activan o debilitan su función (Strzelec et al., 2023). Las variaciones genéticas que alteran los mecanismos inmunomodulatorios pueden modificar la respuesta inflamatoria del sistema inmunitario (Walgrave et al., 2021). Si estas variaciones originan una expresión aumentada de la respuesta inmune, esta puede causar una neuroinflamación descontrolada, lo que facilita el desarrollo de la EA (Strzelec et al., 2023). Por el contrario, estas variaciones pueden contribuir al desarrollo de una respuesta controlada frente a las alteraciones en la homeostasis, llegando a ejercer una función protectora frente a la EA (Strzelec et al., 2023). Por consiguiente, las variaciones genéticas en los genes inmunomoduladores y su relación con la actividad eléctrica, representan un relevante campo de estudio para comprender las vías biológicas que regulan la función inmunitaria que incide en la progresión de procesos neurodegenerativos como la EA (Chanock & Taylor VI, 2002).

Los micro-ARN estudiados en el presente trabajo son el miR-132 localizado en el cromosoma 1 y el miR-146 localizado en el cromosoma 5. Ambos micro-ARN están relacionados con procesos inmunomodulatorios y con la EA (Bin Zhang et al., 2015; Salta & De Strooper, 2017; Zhan-qiang et al., 2023). El miR-132 es un regulador clave en la morfogénesis neuronal, la plasticidad sináptica y la cognición (Walgrave et al., 2021). Este micro-ARN está presente en todos los tipos celulares del sistema nervioso central (SNC), incluyendo astrocitos, oligodendrocitos y microglía (Salta & De Strooper, 2017). Tiene importantes efectos en procesos inmunomodulatorios, ya que modula la respuesta inmune inducida por ligandos endógenos en enfermedades neurológicas (Kong et al., 2015). La regulación negativa o supresión de este micro-ARN se ha relacionado con la EA (Pichler et al., 2017), mientras que una regulación positiva de este contribuye a la

protección neuronal frente a esta enfermedad (Zeng et al., 2022). Además, diversos estudios demostraron que este micro-ARN juega un papel fundamental en el metabolismo de la proteína tau y en la protección frente a la muerte neuronal (Pichler et al., 2017). El miR-146 está presente principalmente en las células de la microglía y en menor medida en las neuronas y los astrocitos (Zhan-qiang et al., 2023). Este micro-ARN es un regulador clave en la respuesta inmune. En concreto, es esencial para la respuesta microglial a la inflamación (Martin et al., 2020), actuando como un represor de las proteínas de señalización de la respuesta inmune para evitar una respuesta inflamatoria hiperactiva (Martin et al., 2020). Por este motivo, una regulación positiva de este micro-ARN contribuye a la neuroprotección de la EA, llegando a posicionarse como una prometedora terapia contra esta enfermedad (Liang et al., 2021).

En definitiva, ambos micro-ARN están relacionados con la inmunomodulación inflamatoria. La alteración de las secuencias genéticas que codifican estos micro-ARN podría desencadenar anomalías transcripcionales que afecten a su función y a su concentración en la célula, resultando en un impacto en los procesos de inmunomodulación y pudiendo contribuir al desarrollo de la EA o, por el contrario, ejercer una protección frente a esta enfermedad.

Capítulo 4. Electroencefalografía

4.1 Introducción a la electroencefalografía

Es de vital importancia comprender la relación entre las alteraciones del funcionamiento eléctrico cerebral y las condiciones neuropatológicas para así poder diagnosticar, detectar y tratar los trastornos cerebrales y sus enfermedades asociadas (Sanei & Chambers, 2013). Para ello, se dispone de una gran variedad de técnicas entre las que destaca el EEG. Esta es una técnica no invasiva de registro de la actividad eléctrica cerebral, que se realiza mediante la colocación de electrodos en el cuero cabelludo del paciente (Cohen, 2017). Esta actividad eléctrica registrada se produce por la transmisión de potenciales postsinápticos que suceden simultáneamente durante la excitación e inhibición sináptica de millones de neuronas piramidales que se encuentran en posición perpendicular respecto al córtex cerebral (Cohen, 2017). Estos potenciales postsinápticos son originados por intercambios iónicos en la dirección marcada por el gradiente a través de la membrana celular, generando corrientes de iones, de manera que las neuronas actúan como diminutos dipolos eléctricos (Sanei & Chambers, 2013).

El EEG es capaz de medir con una alta resolución temporal la actividad eléctrica del cerebro, permitiendo observar cambios muy precisos en la actividad eléctrica a lo largo del tiempo (Cohen, 2017). Sin embargo, esta técnica tiene una baja resolución espacial, presentando una limitada capacidad para registrar actividad eléctrica en estructuras cerebrales profundas (Abad Martín, 2020). Estas señales de actividad eléctrica captadas por el EEG se ven atenuadas, expandidas y contaminadas por ruido al viajar a través de las diferentes superficies de la cabeza (Ruiz-Gómez et al., 2019). Este fenómeno se conoce como el efecto de la conducción del volumen y puede provocar falsas correlaciones entre las series temporales registradas por electrodos cercanos, ya que estos pueden estar captando la actividad eléctrica de las mismas fuentes cerebrales, incluso si son independientes (Ruiz-Gómez et al., 2019).

La señal de EEG normalmente se encuentra contaminada por artefactos que no son de interés, entre los más comunes se encuentran: (i) los artefactos debidos a la red eléctrica (50/60 Hz), causados por los dispositivos eléctricos o por un mal contacto de los electrodos que generan una alta impedancia (Sazgar & Young, 2019); (ii) los artefactos cardiacos, producidos por la actividad eléctrica del corazón que se representa como una onda en forma de espiga y puede confundirse con la actividad eléctrica cerebral (Sazgar & Young, 2019); (iii) los artefactos debidos al movimiento muscular, producidos por la actividad eléctrica generada por movimientos de los músculos del cuero cabelludo, cara, mandíbula y cuello; y (iv) los artefactos debidos a los movimientos oculares, causados por movimientos del globo ocular y párpados, generándose cambios en el potencial del ojo que afectan principalmente a los electrodos frontales (Sazgar & Young, 2019). Para eliminar estos artefactos y obtener una señal aceptable es fundamental el preprocesado del EEG. Una de las técnicas más empleadas en esta etapa es el análisis de componentes independientes (ICA) (Debener et al., 2011). ICA separa la mezcla de señales de fuentes

independientes en componentes independientes, de manera que es capaz de identificar y separar los artefactos presentes en las señales de EEG, permitiendo una interpretación más precisa de esta señal (Debener et al., 2011).

Los registros EEG han sido empleados en numerosos estudios para analizar el efecto de múltiples patologías neurológicas, como la esquizofrenia, la enfermedad de Parkinson, la demencia por cuerpos de Lewy, la epilepsia y la EA, para así contribuir a la investigación, diagnóstico y pronóstico de las mismas (Gutiérrez- de Pablo, 2021).

4.2 Neurofisiología

El sistema nervioso se define como la organización estructurada de células nerviosas y no nerviosas (Bronzino & Peterson, 2006). Las células nerviosas, también conocidas como neuronas, son la unidad funcional básica del sistema nervioso. Su función consiste en generar, integrar y conducir las señales provenientes de otras neuronas o de un estímulo externo y producir respuestas que se envíen a otras células excitables o efectoras como es el caso de las células musculares (Bronzino & Peterson, 2006).

Las neuronas están conectadas entre ellas mediante un punto de unión denominado sinapsis, a través del cual se transmite el impulso nervioso (Sanei & Chambers, 2013). Para lograr la transmisión del impulso nervioso, las neuronas se comunican entre ellas mediante cambios en la polaridad de su membrana, lo que se conoce como un potencial de acción; esto supone una despolarización de la neurona que se va propagando a lo largo de la membrana (Sanei & Chambers, 2013). En el caso de que este potencial de acción o una suma de potenciales de acción logren sobrepasar un cierto umbral, se produce una sinapsis excitatoria y en consecuencia un potencial postsináptico excitatorio (PPSE), transmitiéndose el impulso nervioso a la célula contigua. En el caso de que se hubiera producido una sinapsis inhibitoria se produciría una hiperpolarización y, en consecuencia, un potencial postsináptico inhibitorio (PPSI), inhibiendo la transmisión del impulso nervioso a la próxima célula (Sanei & Chambers, 2013). Estos potenciales postsinápticos son originados por el intercambio iónico a través de la membrana celular de iones positivos (Ca^{2+} , Na^{+} y K^{+}) y negativos (Cl^{-}) en la dirección marcada por el potencial de membrana (Sanei & Chambers, 2013). Los PPSE y PPSI que transmiten las neuronas piramidales que se encuentran en disposición perpendicular a la corteza cerebral generan la actividad eléctrica cerebral medible mediante el uso de técnicas de electroencefalografía (Cohen, 2017). La generación y registro de estos potenciales postsinápticos se representan a continuación en la figura 5.

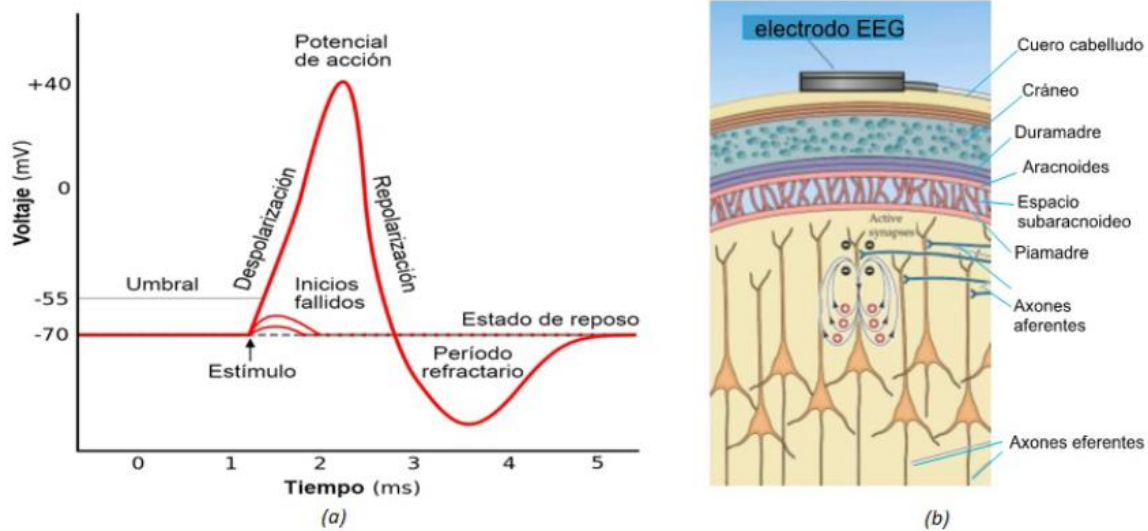


Figura 5. a) Potencial de acción en la neurona, b) Generación de PPSE en la corteza cerebral y su registro mediante un electrodo para producir la señal de EEG (Cruz-Rodríguez et al., 2021)

4.3 Ritmos fisiológicos de la señal de EEG

El EEG se divide tradicionalmente en cinco bandas de frecuencia: delta (δ), zeta (θ), alfa (α), beta (β) y gamma (γ). Estas bandas de frecuencia presentan diferentes amplitudes y frecuencias, y suelen estar asociadas con una serie de estados cognitivos (Jafari et al., 2020; Sanei & Chambers, 2013). Los distintos ritmos cerebrales presentes en un registro de EEG se representan a continuación en la figura 6.

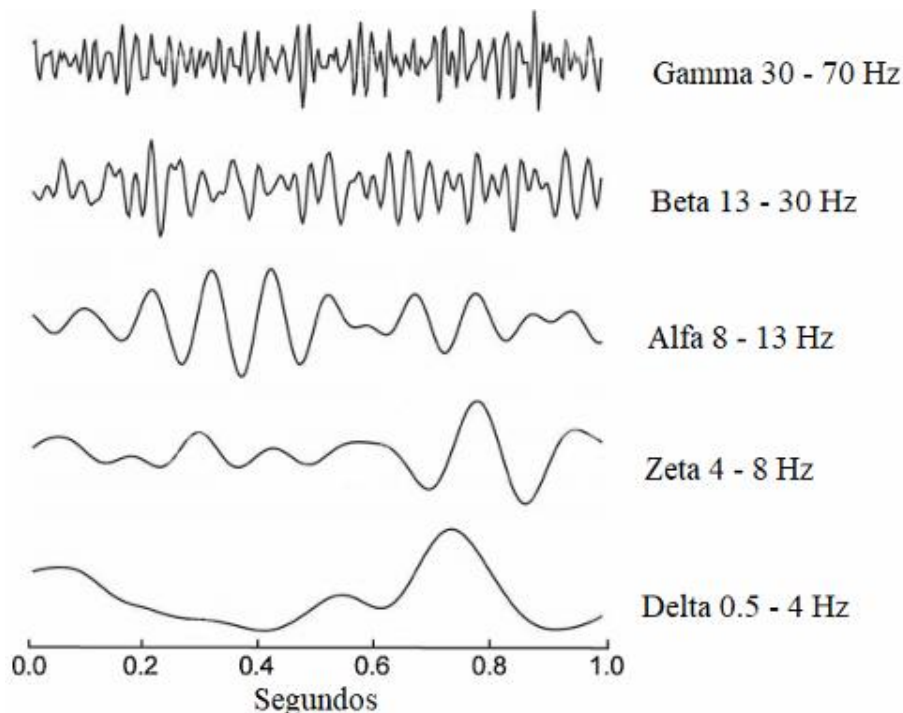


Figura 6. Ritmos cerebrales presentes en un registro EEG. Imagen adaptada (Jafari et al., 2020).

- Ritmos delta (δ): incluyen las frecuencias en el intervalo de 0,5-4 Hz. Son las ondas más lentas, pero con mayor amplitud, pudiendo llegar a tener una amplitud de entre 100 y 200 μ V. Se asocian con el sueño profundo y el estado de inconsciencia. También pueden relacionarse con estados patológicos como la pérdida de consciencia o el coma. Están localizadas en la región frontal y parieto-occipital.
- Ritmos zeta (θ): incluyen las frecuencias en el rango de 4-8 Hz y presentan una amplitud de entre 30-60 μ V. Se asocian con el estado de meditación y de consciencia que deriva hacia la somnolencia. Se presentan principalmente en las zonas parietal, temporal y occipital.
- Ritmos alfa (α): incluyen frecuencias en el intervalo de 8-13 Hz y presentan una amplitud de hasta 50 μ V. Se piensa que indican un estado relajado de conciencia, sin ninguna concentración o atención. Se observan en estados de relajación con los ojos cerrados y se localizan en la zona parieto-occipital.
- Ritmos beta (β): incluyen frecuencias en el rango de 13-30 Hz y con baja amplitud, entre 20 y 30 μ V. Estas ondas se asocian con tareas cognitivas que requieren concentración y con todo tipo de procesos relacionados con la corteza somato-motora. Predominan en las regiones frontal y fronto-polar. Esta banda se puede dividir en dos nuevas bandas de frecuencia: beta 1, entre 13-19 Hz, y beta 2 entre 19-30 Hz.
- Ritmos gamma (γ): incluyen frecuencias superiores a 30 Hz; se trata de las oscilaciones de mayor frecuencia. También son las ondas de menor amplitud, entre 10 y 20 μ V. Se relacionan con situaciones que impliquen un alto procesamiento de información. Se localizan en las regiones frontal y central.

4.4 Alteraciones del EEG en la EA

La EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que produce un deterioro cognitivo caracterizado por la pérdida de memoria y de capacidades del sujeto, impidiendo que éste pueda realizar con normalidad las tareas de su vida diaria (Cummings, 2004). Se caracteriza por la presencia de alteraciones en el comportamiento eléctrico cerebral medibles mediante EEG (Briels et al., 2020). Las principales alteraciones observadas en el EEG en pacientes de EA a lo largo de su continuo son las siguientes (Bairagi, 2018; Gutiérrez de Pablo, 2021): lentificación progresiva del espectro de la actividad EEG, reducción de la complejidad y la irregularidad de las series temporales de los registros EEG, y la disminución de la conectividad y la sincronización de los grupos neuronales.

La lentificación del espectro de la señal es una de las alteraciones más evidentes y estudiadas; esta se manifiesta mediante una reducción de la potencia en las bandas de mayor frecuencia, principalmente de los ritmos alfa y beta, y un incremento de potencia en las bandas de frecuencias bajas (D'Atri et al., 2021). Existe una correlación lineal y no

lineal entre la lentificación del espectro y el grado de demencia en la EA medido utilizando el MMSE (Abad Martín, 2020; Jeong, 2004).

La reducción en la complejidad e irregularidad es otra alteración característica de la EA medible mediante EEG. La complejidad refleja la variabilidad y diversidad de la señal, mientras que la regularidad se refiere a la presencia de patrones consistentes y repetitivos de esta (Bairagi, 2018). Se ha demostrado una reducción de la complejidad e irregularidad significativa en pacientes con EA respecto de pacientes sanos; sin embargo, en enfermos con DCL esta pérdida no es tan clara (Bairagi, 2018; Dauwels et al., 2011).

Por último, la EA está asociada con una disminución de la conectividad y la sincronización de forma global entre distintas regiones del cerebro (Bairagi, 2018). Esto se debe a la acumulación de placas seniles y ovillos neurofibrilares que afectan a la sinapsis de las fibras en las conexiones corticales (Jeong, 2004). Por este motivo, se conoce a la EA como un síndrome de desconexión (Briels et al., 2020). Esto ha permitido el desarrollo de numerosos estudios que emplean diversas métricas para estudiar la conectividad cerebral a lo largo de la EA. Una de las métricas más utilizadas es el *phase lag index* (PLI), ya que se ve afectado en menor medida por los efectos de la conducción del volumen respecto de otros parámetros (Ruiz-Gómez et al., 2019). Este parámetro mide la asimetría de las distribuciones de diferencia de fase de dos series temporales insensibles a señales con retardo de fase cero (Rubinov & Sporns, 2010).

Añadiendo a este campo de estudio el posible efecto que puede tener la información genética sobre la EA, se han realizado diversos estudios que analizan la conectividad funcional en pacientes con EA y sujetos sanos. Por ejemplo, Ponomareva et al. (2020) observaron que los sujetos portadores del alelo A del SNP rs3851179 del gen *PICALM*, poseen una mayor *lagged linear connectivity* interhemisférica de fuentes alfa e interpretó que este alelo otorga a su portador una cierta protección frente a la EA (Ponomareva et al., 2020). Por otro lado, Macedo et al. (2021) observaron que los sujetos portadores de diversos SNPs en los genes *ILIRAP* y *NAV2* presentaban una ralentización de la actividad cerebral evaluada mediante *potencia relativa* (PR) en la banda zeta (Macedo et al., 2021). Además, Maturana-Candelas et al. (2021) observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de PR y de entropía espacial (SE, *spatial entropy*) en la banda beta entre genotipos de la EA con los genes *PICALM* y *CLU* (Maturana-Candelas et al., 2021).

En definitiva, el EEG es una técnica ampliamente utilizada para estudiar la EA cuyo uso ha aumentado significativamente en los últimos años (Dubois et al., 2016; Maestú et al., 2019). La complementariedad de este tipo de análisis con variables genéticas es cada vez mayor, ya que actúan como factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad (Alzheimer's Association, 2024). Sin embargo, las implicaciones genéticas de la EA en la actividad eléctrica registrada mediante EEG aún no se comprenden claramente.

Capítulo 5. Materiales y métodos

5.1 Introducción

En este capítulo se explica de manera detallada la base de datos analizada, con los sujetos que participan en el estudio, el procedimiento de registro de EEG y los diferentes métodos de preprocesado aplicados a la señal. También se explica el método de análisis de conectividad funcional, el análisis genético llevado a cabo y las técnicas estadísticas utilizadas para determinar diferencias significativas.

5.2 Materiales

5.2.1 Sujetos

En este estudio participaron sujetos sanos (HC), con DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV. Los sujetos con DCL o demencia debido a la EA fueron diagnosticados y categorizados según los criterios del National Institute on Aging and Alzheimer's Association (NIA-AA) (Jack et al., 2018). La puntuación del MMSE fue la métrica elegida para evaluar el estado cognitivo de los pacientes (Folstein et al., 1975). Los criterios de inclusión para los pacientes con EA y DCL consistían en tener más de 65 años y un diagnóstico de demencia o DCL debidos a EA. Los criterios de exclusión para estos pacientes consistían en la presencia de signos atípicos en la evolución, antecedentes de neoplasia activa o en tratamiento, antecedentes de cirugía reciente o estados hipercatabólicos, alcoholismo crónico o cualquier indicio de componentes de patología vascular en la historia clínica. Los criterios de inclusión para la participación en el estudio por parte de los sujetos de control consistían en tener más de 65 años y puntuaciones de MMSE superiores a 27. Los criterios de exclusión incluían la presencia de antecedentes neurológicos o trastornos psiquiátricos mayores. Todos los sujetos y sus cuidadores dieron su consentimiento por escrito para participar en este estudio, de acuerdo con las recomendaciones del Código de Ética de la Asociación Médica Mundial. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Oporto, Portugal. Los datos sociodemográficos de los sujetos, así como la información genética correspondiente, se presentan más adelante en la tabla 1.

5.2.2 Registro del EEG

Para cada sujeto, se adquirieron registros de EEG de cinco minutos de duración con un equipo Nihon Kohden Neurofax JE-921A de 19 canales en los electrodos F3, F4, F7, F8, Fp1, Fp2, T3, T4, T5, T6, C3, C4, P3, P4, O1, O2, Fz, Cz y Pz del sistema internacional 10–20, con referencia promedio común. Se utilizó una frecuencia de muestreo de 500 Hz. A cada participante se le solicitó permanecer en un estado de relajación con los ojos cerrados en un ambiente libre de ruido para disminuir la presencia de artefactos. Los investigadores encargados de la adquisición de EEG se encargaron de controlar la somnolencia de los participantes durante el registro.

Los datos de EEG se almacenaron en formato ASCII en una computadora personal y se sometieron a un proceso de preprocesamiento que incluyó los siguientes pasos (Núñez et al., 2017; Ruiz-Gómez et al., 2018): (1) eliminación de la media; (2) filtrado elimina-banda en torno a 50 Hz; (3) filtrado paso-banda entre 0.4 y 98 Hz utilizando una ventana Hamming; (4) análisis de componentes independientes (ICA) para eliminar los componentes asociados con ruido miográfico, cardiográfico y oculográfico; (5) segmentación en épocas de 5 segundos; y (6) rechazo visual de épocas contaminadas por artefactos. Se seleccionó un promedio de 38.94 ± 13.12 (media \pm desviación estándar, DE) épocas libres de artefactos por sujeto. Todos los análisis llevados a cabo en este estudio se realizaron utilizando el software de Matlab®.

5.3 Métodos

5.3.1 Análisis de la dinámica cerebral y de los SNPs

El cerebro puede considerarse una red anatómica y funcional compleja, en la que se producen interacciones entre componentes, ya sean neuronas o regiones cerebrales (Stam & van Straaten, 2012). Para comprender estas interacciones se utiliza el término de acoplamiento o sincronización, cuyo estudio se realiza mediante redes de conectividad funcional (Stam & van Straaten, 2012). Estas redes estudian la existencia de interdependencias estadísticas entre series temporales neurofisiológicas (Stam & van Straaten, 2012). Para calcular la conectividad entre los diferentes canales de registro del EEG, se ha utilizado el PLI, una métrica de conectividad funcional estática que posibilita la estimación de las redes cerebrales considerando acoplamientos en fase (Stam et al., 2007). Esta medida se ha estimado a partir de las señales EEG de 19 canales. De esta manera, obtenemos matrices de conectividad de tamaño 19 x 19 canales, que representan el acoplamiento para cada par de canales en cada una de las cinco bandas de frecuencia (delta, zeta, alfa, beta y gamma) y en una banda global que agrupa a todas las bandas anteriores, para cada sujeto. Después se agrupan estas matrices de conectividad de cada banda de cada sujeto en sus respectivos grupos en función de la condición patológica (HC, DCL, ADMILD, ADMOD, ADSEV).

El PLI mide la asimetría en las distribuciones de la diferencia de fase entre dos series temporales (Stam et al., 2007). Los valores de PLI oscilan entre 0 y 1, donde 0 indica la ausencia de acoplamiento o acoplamiento centrado en 0 o múltiplos de π , y 1 indica un acoplamiento perfecto con diferencias de fase distintas de 0 o múltiplos de π (Stam et al., 2007). La fórmula matemática es la siguiente:

$$PLI_{X,Y} = |\langle \text{sign} \sin(\Delta\phi_{X,Y}) \rangle|$$

donde $\langle \cdot \rangle$ indica la esperanza matemática y $\Delta\phi_{X,Y}$ la diferencia de fase entre las señales X e Y .

Los valores de PLI se calcularon para todos los grupos bajo estudio. Estos grupos están definidos en función de la severidad de la enfermedad (HC, DCL, ADMILD, ADMOD, ADSEV) y de dos genotipos diferentes (cada subgrupo recoge a los sujetos que portan un alelo de riesgo para padecer la EA, mientras que los sujetos del otro subgrupo portan el alelo protector para padecer esta enfermedad). Estos alelos tienen su origen debido a un SNP en un micro-ARN concreto. Este procedimiento se repite por cada SNP bajo estudio. La elección de estos SNPs se basó en una revisión bibliográfica para identificar diversos micro-ARN cuya alteración de tipo SNP tuviera un efecto desregulatorio en la inmunomodulación del sistema inmunitario. Los tres SNP elegidos están incluidos en la base de datos del estudio y se encuentran expuestos en la tabla 1.

En primer lugar, en los loci chr1:98087276 y chr1:98037378 (GRCh38.p14), se eligieron los SNP asociados con el miR-132 rs1198588 y rs1625579 (Kuswanto et al., 2015; P. Zhang et al., 2016). Este micro-ARN participa en procesos antiinflamatorios, afectando a monocitos y macrófagos *in vitro* (Salta & De Strooper, 2017). Por ello, el miR-132 actúa como un inhibidor de la neuroinflamación y, en consecuencia, su regulación negativa tiene una gran implicación en la etiología de la EA (Pichler et al., 2017), mientras que su regulación positiva contribuye a la protección neuronal de esta enfermedad. Debido a que no hay evidencia previa de asociación entre estos SNPs y la existencia de disrupciones en inmunomodulación o exacerbación de la EA, se ha asignado el papel de riesgo o protector de cada alelo en función de su asociación con otra patología; en este caso, los SNPs están asociados con el riesgo de esquizofrenia (Kuswanto et al., 2015; P. Zhang et al., 2016). Para el rs1198588 la base de datos define A como el alelo de referencia y T como el alelo de riesgo. La literatura define el alelo de referencia como A y el de riesgo como T (Kuswanto et al., 2015). Para el rs1625579 la base de datos define G como el alelo de referencia y T como el alelo de riesgo. La literatura define el alelo de referencia como G y el de riesgo como T (Zhang et al., 2016).

En segundo lugar, en el locus chr5:160485411 (GRCh38.p14), se eligió el SNP rs2910164 asociado al miR-146 (Walgrave et al., n.d.). Este micro-ARN es un regulador clave en la respuesta inmune, especialmente relacionado a la respuesta microglial (Martin et al., 2020). El miR-146 actúa como un precursor de la neuroinflamación y, en consecuencia, una regulación positiva de este micro-ARN contribuye a la neuroprotección frente a la EA (Liang et al., 2021). De igual manera que en el caso anterior, al no haber evidencia previa de asociación entre este SNP y disrupciones en inmunomodulación o exacerbación de la EA, se ha asignado el papel de riesgo o protector de cada alelo en función de su asociación con otra patología; en este caso con el riesgo de enfermedad de las arterias coronarias (Xiong et al., 2014). Para el rs2910164 la base de datos define C como el alelo de referencia y G como el alelo de riesgo. En cambio, la literatura define el alelo de referencia como G y el de riesgo como C (Xiong et al., 2014). Por este motivo, se intercambiaron los alelos de la base de datos para coincidir con la literatura y que a su vez estuvieran alineados con los SNPs rs1198588 y rs1625579.

SNP	Genotipo	Alelo	Número de sujetos	Edad (media \pm DE)	Sexo (Femenino : Masculino)	Puntuación MMSE (Media \pm DE)
rs1198588	HC	P	15	80.20 \pm 8.34	8:7	29.06 \pm 0.96
		R	30	79.46 \pm 6.81	15:15	28.76 \pm 1.16
	DCL	P	18	84.38 \pm 7.27	15:3	24.16 \pm 2.70
		R	27	85.14 \pm 7.15	16:11	22.55 \pm 2.92
	ADMILD	P	17	79.58 \pm 7.24	12:5	22.29 \pm 1.99
		R	29	80.68 \pm 6.97	16:13	22.68 \pm 2.50
	ADMOD	P	11	83.45 \pm 6.07	9:2	13.09 \pm 1.44
		R	28	83.46 \pm 8.71	24:4	13.82 \pm 3.19
	ADSEV	P	9	84.44 \pm 4.03	8:1	4.44 \pm 4.24
		R	16	77.37 \pm 6.17	13:3	3.50 \pm 4.32
rs1625579	HC	P	14	79.71 \pm 8.06	8:6	29.14 \pm 0.86
		R	28	79.96 \pm 7.27	15:13	28.71 \pm 1.21
	DCL	P	13	84.46 \pm 6.26	10:3	24.46 \pm 2.56
		R	31	85.61 \pm 6.80	20:11	22.74 \pm 2.96
	ADMILD	P	13	22.15 \pm 2.03	10:3	80.46 \pm 6.35
		R	33	80.21 \pm 7.35	18:15	22.69 \pm 2.43
	ADMOD	P	9	84.55 \pm 6.16	7:2	13 \pm 1.58
		R	30	80.33 \pm 8.42	26:4	13.80 \pm 3.08
	ADSEV	P	9	84.44 \pm 4.03	8:1	4.44 \pm 4.24
		R	16	77.37 \pm 6.17	13:3	3.50 \pm 4.32
rs2910164	HC	P	26	79.61 \pm 7.07	12:14	29 \pm 1.05
		R	19	79.84 \pm 7.72	11:8	28.68 \pm 1.15
	DCL	P	27	85.33 \pm 6.38	20:7	23.40 \pm 2.40
		R	18	84.11 \pm 8.25	11:7	22.88 \pm 3.61
	ADMILD	P	23	81.13 \pm 7.36	15:8	22.39 \pm 2.03
		R	23	79.43 \pm 6.70	13:10	22.69 \pm 2.06
	ADMOD	P	18	82.11 \pm 7.60	16:2	13 \pm 2.67
		R	21	80.61 \pm 8.61	17:4	14.14 \pm 2.88
	ADSEV	P	12	80.33 \pm 6.34	10:2	3.08 \pm 4.25
		R	13	79.53 \pm 6.72	11:2	4.53 \pm 4.25

Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos de los sujetos participantes en el estudio. Para cada uno de los 3 SNPs (rs1198588, rs1625579 y rs2910164), se indica el número de sujetos que presentan las variantes de riesgo (R) y protectoras (P). DE, desviación estándar.

5.3.2 Análisis estadístico

Tras obtener los valores de PLI para los tres genotipos en sus diferentes etapas y en sus correspondientes bandas de frecuencia, se realizó un análisis estadístico para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos que portan el alelo de riesgo y los que portan el alelo protector en cada banda y etapa de la enfermedad. Este análisis se realizó para cada uno de los tres genotipos, empleando el test U de Mann-Whitney. Esta es una prueba no paramétrica entre muestras independientes, que se utiliza para determinar si existen diferencias significativas entre ellas (Mann & Whitney, 1947). Para realizar esta prueba se obtiene el estadístico de contraste, este estadístico permite calcular una probabilidad específica conocida como *p-valor* (McKnight & Najab, 2010). Los *p*-valores se emplean para realizar el contraste de hipótesis estadístico. Si este *p-valor* toma un valor inferior a un determinado umbral de significación (normalmente *p-valor* < 0.05), se rechaza la hipótesis nula, y se asume que ambas muestras presentan diferencias (McKnight & Najab, 2010).

Para evitar la aparición de falsos positivos debidos a las múltiples comparaciones realizadas, se utilizó la corrección estadística de *false discovery rate* (FDR) (Benjamini & Hochberg, 1995). Los resultados de dichas pruebas son estudiados y discutidos en los próximos capítulos.

Capítulo 6. Resultados

Habiendo explicado la metodología empleada en la elaboración del presente TFG, en este capítulo se exponen los resultados obtenidos. Para la obtención de estos, se calcularon los valores de PLI para cada sujeto portador del alelo de protección y de riesgo en cada etapa de la condición patológica y en cada una de las cinco bandas de frecuencia, además de en una banda global (1-70 Hz). Este proceso se repite para cada uno de los tres SNPs bajo estudio.

En primer lugar, se representaron los valores de PLI utilizando el software de *BrainNet Viewer* (Xia et al., 2013). En las figuras 7, 9 y 11 se muestran para cada SNP respectivamente, las conexiones entre pares de canales, representando todos los valores de PLI de los sujetos con el alelo de riesgo frente a los sujetos con el alelo protector en cada estadio clínico y banda de frecuencia. Además, estas conexiones se representan de colores fríos si presentan un valor de PLI bajo y de colores cálidos si presentan un valor de PLI elevado. Las figuras 7 y 11 muestran generalmente que los sujetos con el alelo de riesgo presentan conexiones con colores más cálidos y, en consecuencia, valores de PLI más altos que los sujetos con el alelo protector. Esta observación se aprecia principalmente en las bandas beta y gamma de la etapa DCL. En ellas los sujetos con el alelo de riesgo disponen de valores de PLI cercanos a 0.12, representando estas conexiones de color rojizo, mientras que los sujetos con el alelo protector presentan valores de PLI más bajos que se aproximan a 0.08, representando las conexiones de color azulado. Destaca también la banda alfa durante la etapa HC, donde los sujetos con el alelo de riesgo presentan valores de PLI cercanos a 0.3, presentando conexiones con colores más rojizos, en cambio, los sujetos que portan el alelo protector presentan valores de PLI más bajos y próximos a valores de 0.08, representando estas conexiones con colores más azulados. A diferencia de los casos anteriores, en la figura 7 se observa que en la banda gamma del estadio ADMILD, los sujetos con el alelo protector presentan valores de PLI mayores que los sujetos con el alelo de riesgo. Estos sujetos presentan valores cercanos a 0.11, presentando colores más cálidos. En cambio, los sujetos con el alelo de riesgo presentan valores de PLI próximos a 0.06, mostrando colores más fríos.

En segundo lugar, a partir de los resultados previos, se ha realizado un análisis de estadístico mediante el test U de Mann-Whitney (con corrección FDR), con el objetivo de detectar diferencias estadísticamente significativas en los valores de PLI entre los diferentes genotipos de riesgo y protección en las diferentes bandas de frecuencia y estadios de la EA. Para la representación de estos resultados se ha empleado el software de *BrainNet Viewer* (Xia et al., 2013). En las figuras 8, 10 y 12 se exponen para cada SNP respectivamente, las conexiones entre los pares de canales que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores de PLI entre los sujetos que presentan un genotipo con el alelo de riesgo y protector en cada banda de frecuencia y estadio clínico. Además, estas conexiones estadísticamente significativas se representan de color azul si las conexiones de los sujetos con alelos protectores tienen un valor de PLI más alto que

las conexiones de los sujetos con alelos de riesgo. Por el contrario, si las conexiones de los sujetos con alelos de riesgo tienen un valor de PLI más alto que las conexiones de los sujetos con alelos protectores se representan de color rojo. Las figuras 8 y 12 muestran diferencias estadísticamente significativas en los diferentes estadios y bandas de frecuencia; por el contrario, la figura 10 presenta escasas diferencias en las conexiones entre genotipos protectores y de riesgo. La banda de frecuencia global (1-70 Hz) de las figuras 8 y 12 presenta un decremento continuo de las conexiones estadísticamente significativas desde el estadio HC hasta el estadio ADSEV, de manera que se produce un decremento de estas conexiones estadísticamente significativas a medida que se instaura y avanza la enfermedad. Además, la mayoría de estas conexiones se representan de color rojo, lo que indica que los valores de PLI de los sujetos con alelo protector son significativamente mayores que los valores de PLI de los sujetos con alelo de riesgo.

En cuanto a las bandas de frecuencia, en las figuras 8 y 12 se observan un gran número de diferencias significativas en las bandas beta y gamma del estadio DCL. Estas conexiones se representan en rojo, lo que indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo de riesgo respecto de los sujetos con alelo protector. En estas dos figuras también se aprecia un gran número de diferencias significativas en la banda alfa del estadio HC, de igual manera que en el caso anterior, las conexiones se representan en rojo, por lo que los valores de PLI son significativamente mayores en los portadores del alelo de riesgo que en los portadores del alelo protector. En la figura 7, se observan un gran número de diferencias estadísticamente significativas en la banda gamma del estadio ADMILD. A diferencia de los casos anteriores, las conexiones se representan de color azul, lo que indica que los sujetos con alelo protector presentan valores de PLI significativamente más elevados que los sujetos con alelo de riesgo.

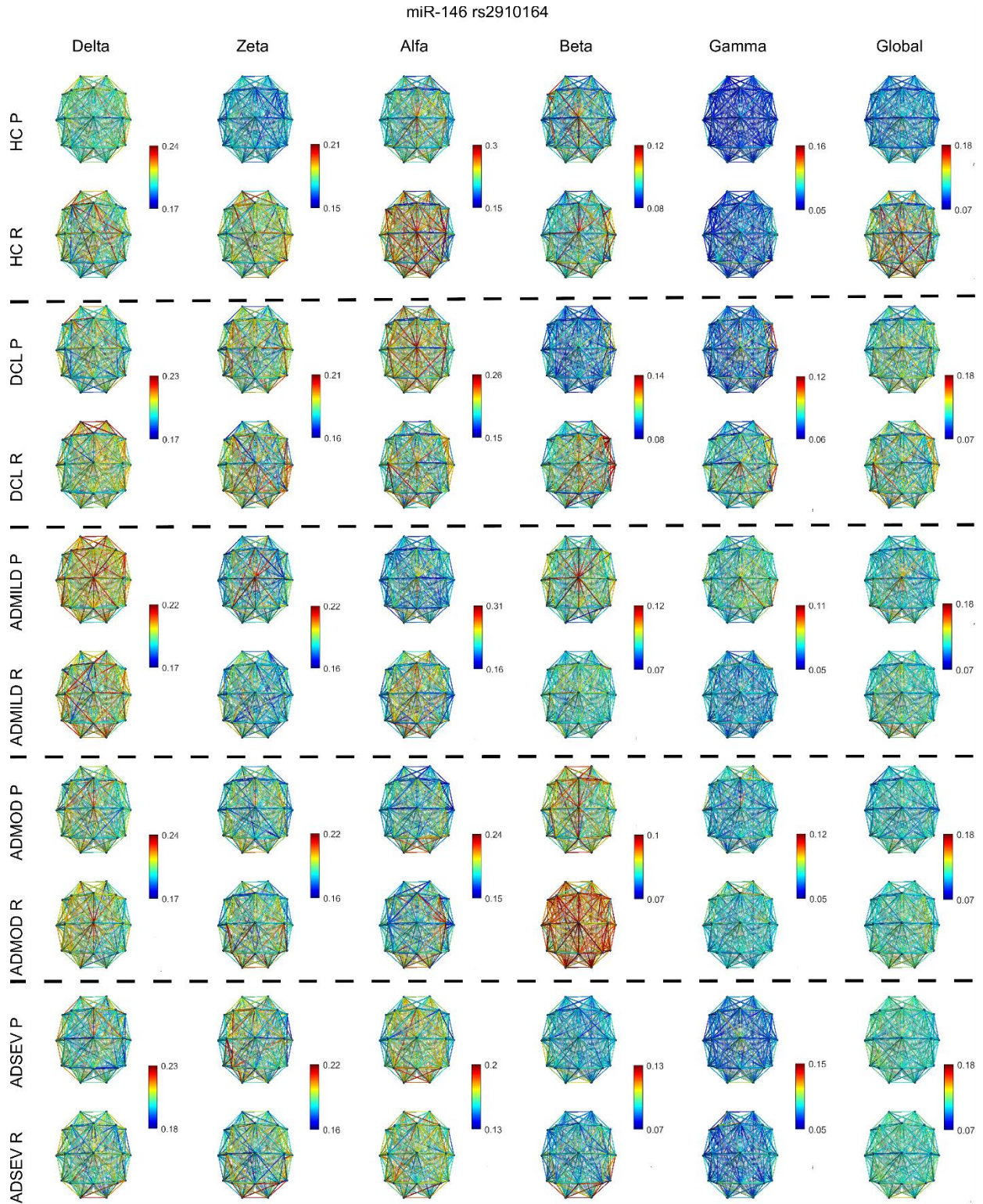


Figura 7. Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs2910164. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas.

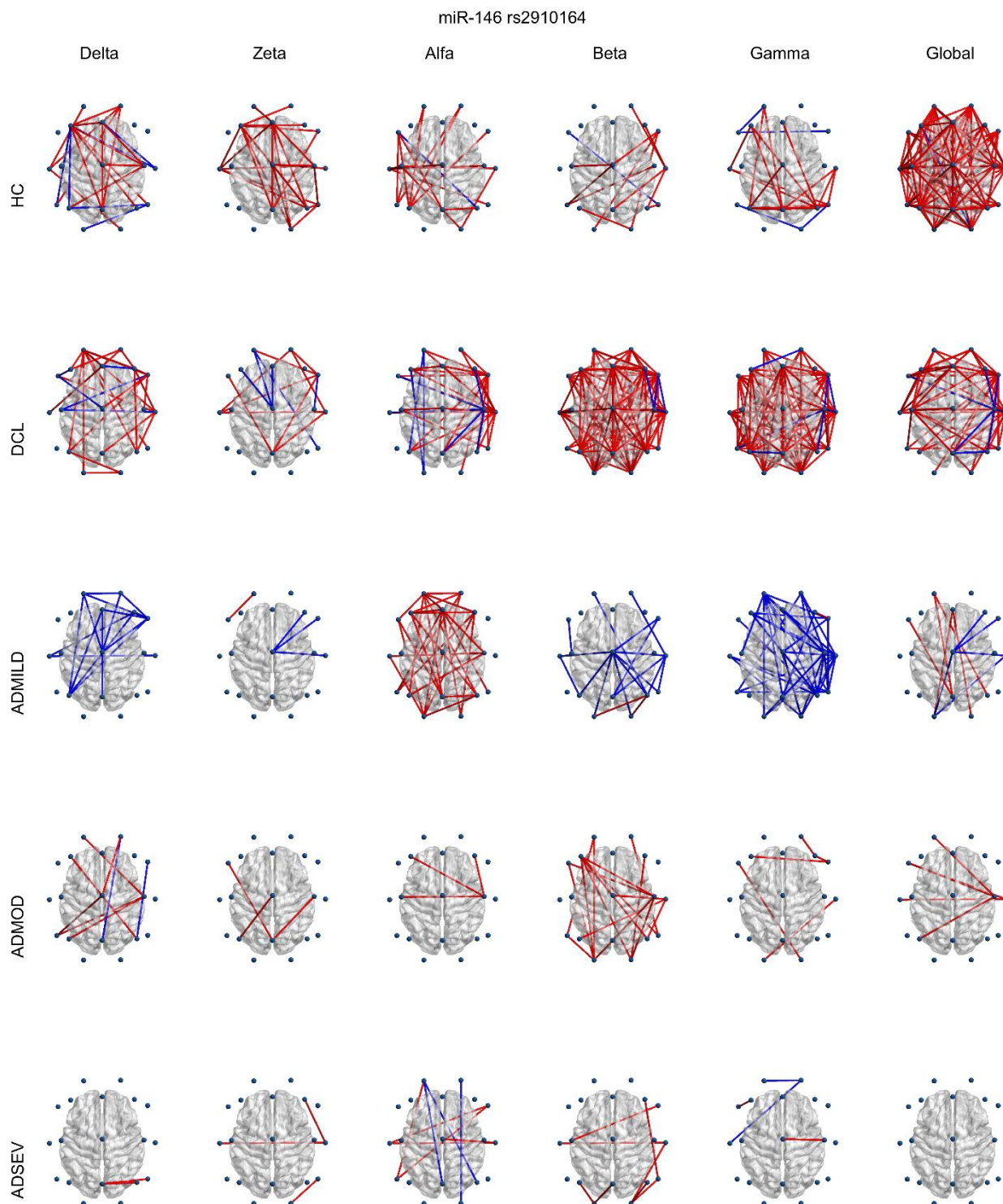


Figura 8. Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs2910164 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo.

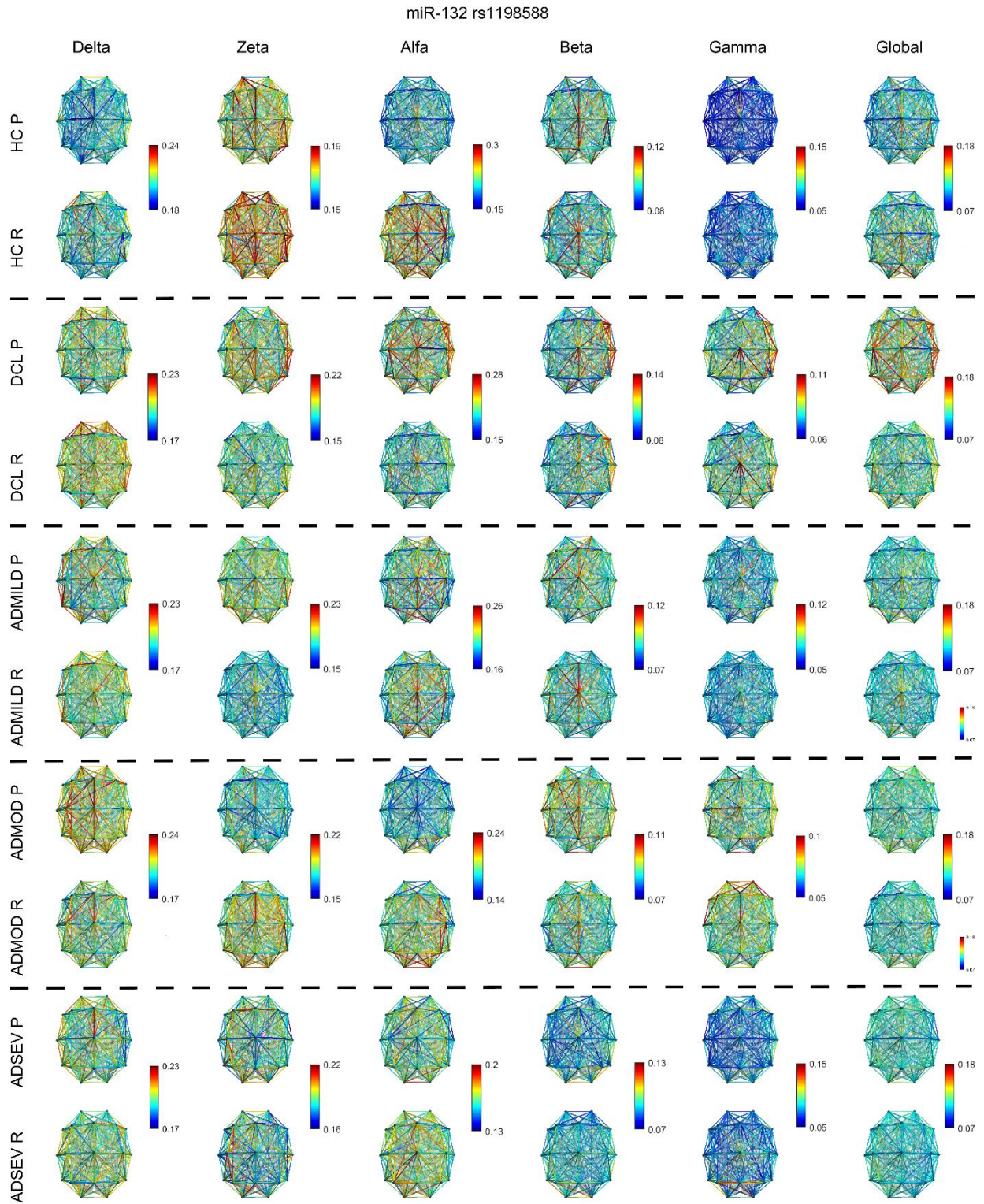


Figura 9. Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs1198588. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas.

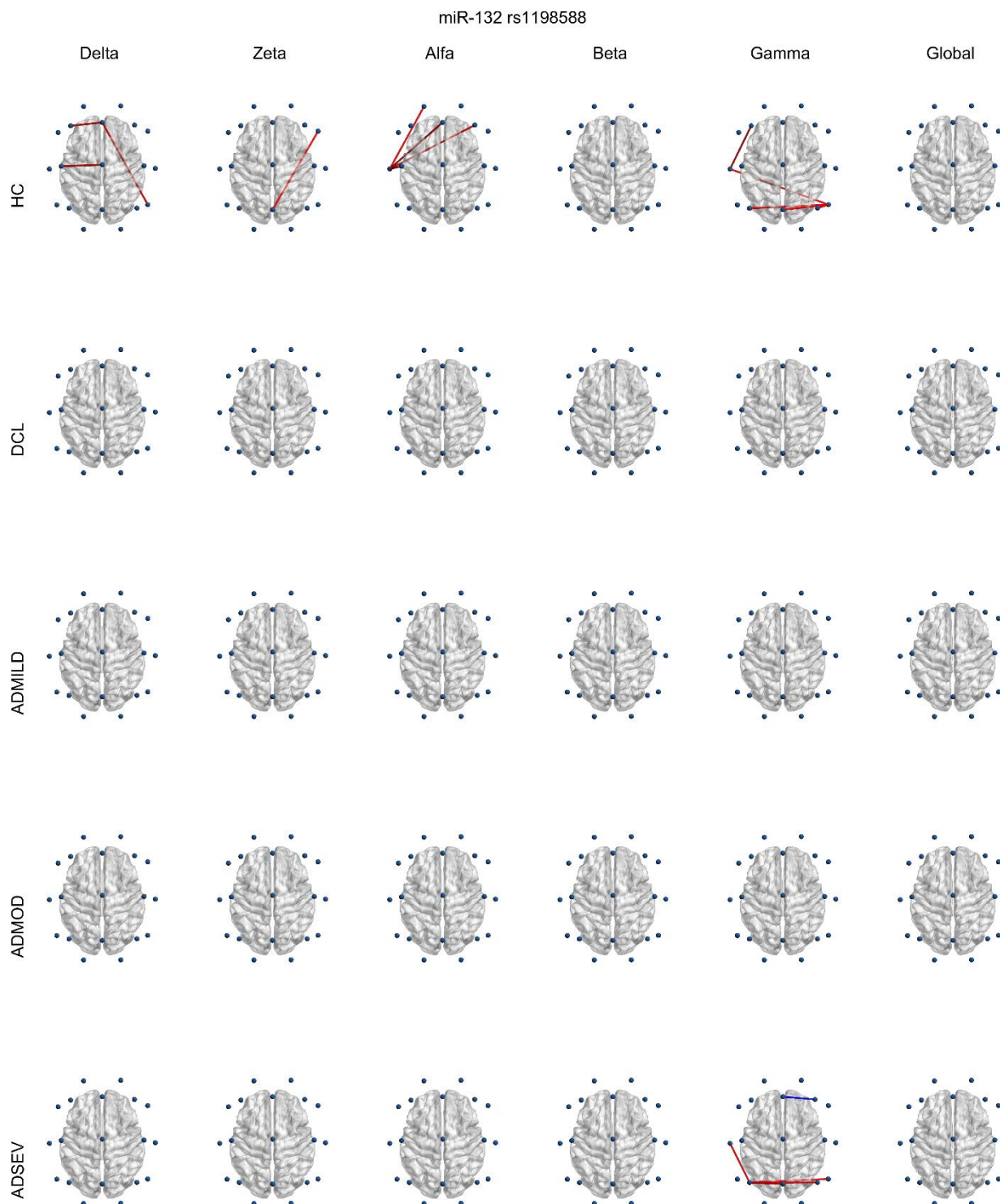


Figura 10. Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs1198588 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo.

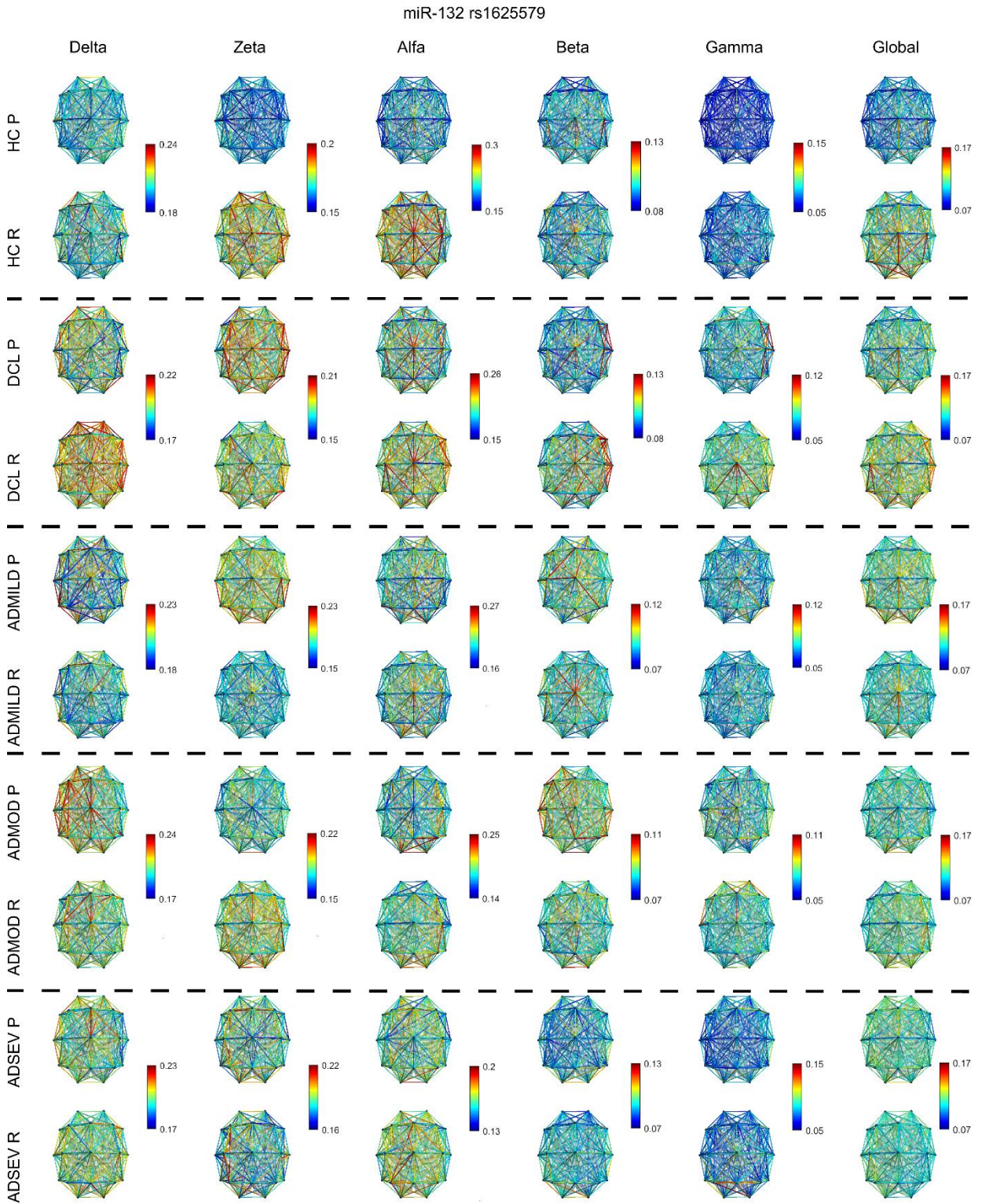


Figura 11. Representación de todos los valores PLI para cada uno de los subgrupos con alelos de protector (P) o de riesgo (R) del SNP rs1625579. Se muestran los resultados para cada una de las etapas de evolución de la EA (10 subgrupos: HC P, HC R, DCL P, DCL R, ADMILD P, ADMILD R, ADMOD P, ADMOD R, ADSEV P y ADSEV R) y cada banda de frecuencia: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). Los colores cálidos indican valores de PLI más elevados, mientras que los colores fríos reflejan valores de PLI más bajos. Es importante destacar que el rango de colores difiere para diferentes estadios y bandas.

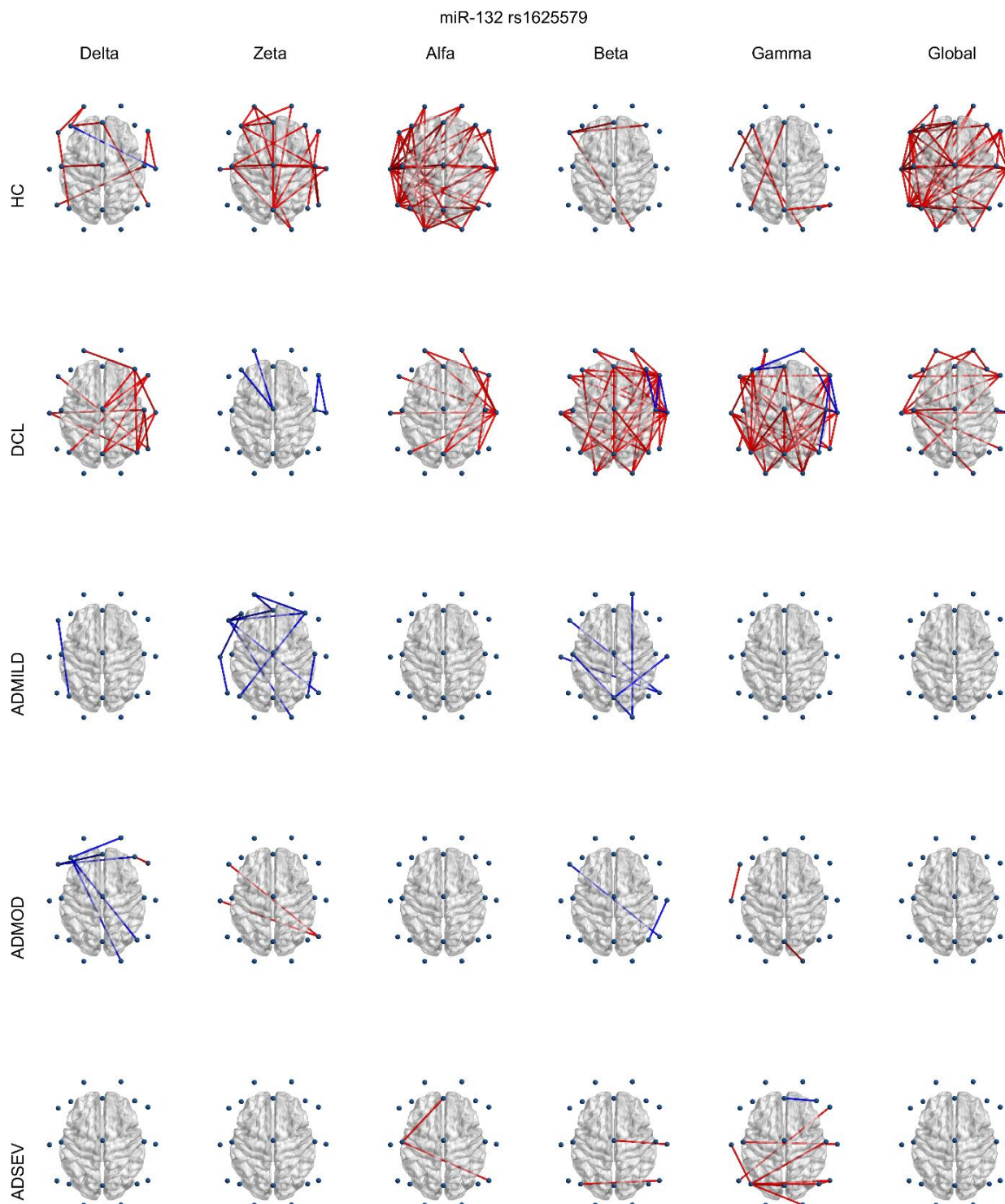


Figura 12. Representación de las conexiones que muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores PLI entre los portadores del alelo de riesgo y protector del SNP rs1625579 (p -valor < 0.05 , test de la U de Mann-Whitney con corrección FDR). Se incluyen 5 comparaciones, cada una correspondiente a una etapa de evolución de la EA (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV) para cada una de las 6 bandas de frecuencia analizadas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30Hz), γ (30-70 Hz) y Global (1-70 Hz). El color azul indica un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos con alelo protector, mientras que el color rojo un valor de PLI significativamente más alto en los sujetos de riesgo.

Capítulo 7. Discusión y conclusiones

7.1 Discusión

En este trabajo se ha estudiado la existencia de diferencias en patrones de conectividad funcional a lo largo del continuo de la EA en tres genotipos diferentes, cada uno con una variación de tipo SNP que afecta a un micro-ARN asociado a funciones inmunomodulatorias. Para ello, se han extraído los valores de PLI entre los 19 canales de registro del EEG para cada sujeto. Estos valores representan el acoplamiento de cada par de canales en cada una de las cinco bandas clásicas de frecuencia (delta, zeta, alfa, beta y gamma) y en una banda global que agrupa a todas las bandas anteriores. Además, los sujetos se clasifican en función de su estadio patológico (HC, DCL, ADMILD, ADMOD y ADSEV). Este proceso se repite para cada uno de los tres genotipos estudiados. Una vez presentados de forma gráfica los resultados obtenidos tras aplicarse el correspondiente análisis estadístico, se proponen interpretaciones fisiológicas que expliquen las alteraciones observadas en términos de conectividad funcional.

7.1.1 Diferencias entre genotipos

Los SNPs rs2910164 y rs1625579, localizados en el miR-146 y miR-132 respectivamente, muestran un gran número de conexiones estadísticamente significativas en diferentes estadios y bandas de frecuencia. Por el contrario, el SNP rs1198588 en el miR-132, no presenta prácticamente ninguna conexión estadísticamente significativa en los diferentes estadios y bandas de frecuencia.

El miR-132 modula la respuesta inmune inducida por ligandos endógenos en enfermedades neurológicas (Kong et al., 2015). La regulación negativa o supresión de este micro-ARN se ha relacionado con la EA (Pichler et al., 2017), mientras que una regulación positiva de este puede contribuir a la protección neuronal frente a esta enfermedad (Zeng et al., 2022). Por otra parte, el miR-146 es un regulador clave en la respuesta inmune y es esencial para la respuesta microglial a la inflamación (Martin et al., 2020). La regulación positiva de este micro-ARN puede contribuir a la neuroprotección frente a la EA, llegando a posicionarse como una prometedora terapia contra esta enfermedad (Liang et al., 2021). El hecho de que el rs1625579 y el rs2910164 presenten un elevado número de conexiones significativas puede explicarse atendiendo a la función que desempeña el micro-ARN al que alteran. Estos SNPs podrían estar ocasionando una regulación positiva de sus respectivos micro-ARNs y, en consecuencia, estar induciendo un efecto neuroprotector frente a la EA (Liang et al., 2021; Zeng et al., 2022). Esto se debe a que en las figuras 8 y 12 la gran mayoría de conexiones se representan en rojo, lo que significa que los sujetos con el alelo de riesgo presentan valores de PLI significativamente más altos que los sujetos con el alelo protector. Esto también puede observarse en las figuras 7 y 11, donde los sujetos con el alelo de riesgo presentan valores de PLI más altos que los sujetos con el alelo protector. En este caso, se esperaría que los

sujetos con el alelo de riesgo tuvieran una mayor conectividad funcional en comparación con aquellos con el alelo protector, mostrándose las conexiones en rojo. En cambio, si estos SNPs ocasionaran una regulación negativa de estos micro-ARNs y contribuyeran en el desarrollo de la EA, los sujetos con el alelo de riesgo presentarían valores de PLI significativamente más bajos que los sujetos con el alelo protector. En ese caso, las conexiones se mostrarían de color azul, reflejando la reducción de la conectividad funcional característica de la EA (Briels et al., 2020). En definitiva, los alelos considerados de riesgo en el rs1625579 del miR-132 y en el rs2910164 del miR-146, podrían estar ejerciendo un efecto neuroprotector frente a la EA. Esto podría deberse a que una regulación positiva de ambos micro-ARNs regula la respuesta inmune, disminuyendo el fenotipo proinflamatorio y evitando el desarrollo de la EA (Kong et al., 2015; Martin et al., 2020)

Por el contrario, analizando la figura 10 observamos que el rs1198588 no presenta prácticamente diferencias en los valores de PLI. Además, en la figura 9 los valores de PLI de los sujetos que portan el alelo de riesgo y protector son bastante similares. Esto puede deberse a que este SNP no modifica el funcionamiento del miR-132 de manera que se desencadenen cambios en las respuestas inmunológicas que se dan en la EA, aunque sí podría modular respuestas inmunológicas de otro tipo (Fairfax et al., 2014). Por este motivo, este SNP podría no ser apreciable en términos de conectividad funcional y, en consecuencia, los genotipos con el alelo de riesgo y protector no presentan diferencias en los patrones de conectividad funcional.

7.1.2 Banda de frecuencia global (1-70 Hz)

En los SNPs rs2910164 y rs1625579 se muestran un gran número de conexiones estadísticamente significativas. En las figuras 8 y 12, considerando la banda de frecuencia global (1-70 Hz), se proporciona una visión general de las diferencias de conectividad funcional en todas las bandas de frecuencia simultáneamente. En esta banda, se observa una disminución de las conexiones a medida que se instaura y progresa la EA. En sujetos HC y DCL existen diferencias en la conectividad funcional entre los sujetos que contienen el alelo de riesgo y el alelo protector, pero en las etapas ADMILD, ADMOD y ADSEV estas conexiones disminuyen significativamente. En las fases preclínicas, los alelos de riesgo de ambos SNPs podrían estar generando un efecto protector frente a la EA, ya que los sujetos con el alelo de riesgo presentan valores de PLI significativamente más elevados que los sujetos con el alelo protector, representándose estas diferencias de conectividad funcional de color rojo (Liang et al., 2021; Zeng et al., 2022). Una vez instaurada la EA no hay prácticamente diferencias, lo que podría deberse a que los sujetos portadores del alelo de riesgo y del alelo protector han desarrollado la enfermedad y, en consecuencia, se ha producido en ambos grupos el efecto de síndrome de desconexión característico de esta enfermedad (Briels et al., 2020), lo que hace irrelevante el efecto neuroprotector de ambos SNPs y evita que se presenten diferencias en patrones de conectividad funcional (Briels et al., 2020).

7.1.3 Bandas de frecuencia específicas

En relación con las bandas de frecuencia específicas, ambos SNPs rs2910164 y rs1625579 presentan un destacable número de conexiones estadísticamente significativas en diferentes estadios y bandas.

En primer lugar, en las figuras 8 y 12 se observa un gran número de diferencias significativas en las conexiones de la banda alfa en sujetos HC; estas conexiones se muestran de color rojo, lo que indica un valor significativamente mayor de PLI en los sujetos con el alelo de riesgo. Además, las figuras 7 y 11 los sujetos con el alelo de riesgo presentan colores más cálidos que los sujetos con el alelo protector y, en consecuencia, mayores valores de PLI. Se ha demostrado la asociación de la inflamación con alteraciones en la conectividad funcional en adultos mayores sin demencia (Walker et al., 2020). Además, esta asociación se observó que era mayor en sujetos que presentaban el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* (Walker et al., 2020). Por este motivo, los alelos de riesgo de los SNPs rs2910164 y rs1625579 podrían estar ejerciendo una protección frente a la inflamación y la EA, de manera que esto se muestre mediante la presencia de valores de PLI mayores en los sujetos con el alelo de riesgo en la banda alfa en sujetos HC.

En segundo lugar, se aprecian en las figuras 8 y 12 que ambos SNPs presentan un elevado número de diferencias significativas en las conexiones de las bandas beta y gamma del estadio DCL. Esta observación respalda que las señales EEG de los sujetos DCL en estas bandas muestran las mayores diferencias de conectividad funcional entre los sujetos con el alelo de riesgo y el alelo protector. Este elevado número de diferencias significativas en las conexiones puede estar relacionado con un aumento de los mecanismos de compensación para contrarrestar los déficits funcionales de este estadio (Maturana-Candelas et al., 2019). Varios estudios han demostrado un aumento de la plasticidad cerebral intentando compensar la neurodegeneración temprana de pacientes con DCL, incluso antes de que comiencen a surgir los síntomas (Ashraf et al., 2015; Becker et al., 1996). En las figuras 8 y 12 estas conexiones se representan en rojo, lo que indica un valor significativamente mayor de PLI en los sujetos con el alelo de riesgo. Además, en las figuras 7 y 11 los sujetos con el alelo de riesgo presentan colores más cálidos que los sujetos con el alelo protector y, en consecuencia, mayores valores de PLI. Estos mecanismos de compensación propios de esta etapa podrían estar generando un aumento de la conectividad funcional de manera anormalmente alta en los sujetos con el alelo de riesgo. Por el contrario, estos mecanismos podrían no estar activándose de igual manera en los sujetos con el alelo protector, de manera que estos no presentan este aumento de la conectividad funcional. El hecho de que estos mecanismos se activen o no en los DCL podría deberse al efecto que producen los SNPs a nivel inmunomodulatorio. En definitiva, los mecanismos de compensación propios del estadio DCL podrían estar produciendo un aumento anormal de la conectividad funcional en los sujetos portadores del alelo de riesgo. Esto podría deberse a que estas alteraciones hacen a los sujetos que las portan más propensos a desarrollar estos mecanismos. Por este motivo, se podrían estar produciendo diferencias en los valores de conectividad funcional entre los sujetos con el alelo de riesgo y el alelo protector en sujetos con DCL en altas frecuencias como beta y gamma.

En tercer lugar, respecto del SNPs rs2910164, en la figura 8 se observa un gran número de diferencias significativas en las conexiones de la banda gamma en sujetos ADMILD. A diferencia del resto de casos, las conexiones se muestran de color azul, lo que indica un valor significativamente mayor de PLI en los sujetos con el alelo protector respecto de los sujetos con el alelo de riesgo. En la figura 7 también se observan estos resultados, presentando los sujetos con el alelo protector colores más cálidos que los sujetos con el alelo de riesgo y, en consecuencia, mayores valores de PLI. Esto puede deberse a la influencia opuesta de los alelos en el miR-132 en sujetos ADMILD (Maturana-Candelas et al., 2021). Se ha demostrado la ocurrencia de este suceso, por ejemplo, en el gen PICALM en sujetos sanos (Ponomareva et al., 2020). Esto podría sugerir que los alelos de este micro-ARN podrían diferir en el efecto que producen a nivel de conectividad funcional dependiendo del estado cognitivo del sujeto, o al menos de la gravedad de la neurodegeneración (Maturana-Candelas et al., 2021). En definitiva, el hecho de que los sujetos ADMILD en la banda gamma presenten valores de conectividad funcional mayores en los sujetos con alelo protector, en lugar de los sujetos con el alelo de riesgo como ocurre en el resto de los casos, puede deberse a la influencia opuesta que provocan estos alelos en esta banda y estado cognitivo concreto.

Por último, en las figuras 8 y 12 no se aprecia un número relevante de diferencias significativas en ninguna banda de los estadios ADMOD y ADSEV. La ausencia de estas diferencias podría deberse a que los sujetos portadores del alelo de riesgo y del alelo protector han desarrollado la enfermedad y, en consecuencia, se ha producido en ambos grupos el efecto de síndrome de desconexión característico de esta enfermedad (Briels et al., 2020), lo que hace irrelevante el efecto neuroprotector de ambos SNPs y evita que se presenten diferencias en patrones de conectividad funcional en cualquiera de las bandas de frecuencia (Briels et al., 2020).

7.2 Limitaciones y líneas futuras

En este apartado se discuten las limitaciones y las líneas futuras de los resultados obtenidos. Estas limitaciones y líneas futuras han de tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados presentados en el apartado anterior.

En primer lugar, los resultados indican una posible relación entre los alelos de los SNPs localizados en el miR-132 y miR-146 y las alteraciones en los valores de PLI a lo largo del continuo de la EA. Desafortunadamente, no tenemos acceso a datos de imágenes médicas para validar las relaciones causales entre nuestros resultados y las alteraciones en el metabolismo inmunomodulatorio. Por esta razón, este estudio no se centra tanto en determinar las asociaciones entre los alelos de los micro-ARNs y las alteraciones de la conectividad funcional del EEG a lo largo de la EA, sino más bien en mostrar posibles causas fisiológicas relacionadas con estos alelos que pueden estar asociadas a perturbaciones en la conectividad cerebral a lo largo de esta enfermedad. Por lo tanto, existe la posibilidad de que otros factores subyacentes puedan estar causando estos cambios, como un efecto secundario oculto de los alelos de los SNPs que afectan al miR-132 y al miR-146. Por este motivo, se sugiere aumentar los datos de este estudio para determinar asociaciones más certeras.

Una de las principales limitaciones que presenta el estudio es el tamaño muestral de este. Al contar con 253 sujetos, se dispone de un tamaño muestral pequeño, ya que al realizarse un análisis genético es posible que los resultados no sean representativos de la población general, presentando cierto sesgo. Esto limita la viabilidad estadística del estudio ya que a la hora de analizar los resultados de conectividad obtenidos con PLI es posible que existan conexiones significativas, pero que no sean lo suficientemente fuertes como para alcanzar significancia estadística con el tamaño de muestral utilizado. Por este motivo, resulta interesante llevar a cabo este mismo estudio con un mayor número de participantes, para ofrecer así unos resultados más representativos de la población general.

Otra limitación en relación con la anterior es la heterogeneidad de la base de datos en función la condición clínica. Se presenta un mayor número de sujetos sanos que de sujetos con ADSEV, al igual que un mayor número de sujetos con la variante protectora que con la variante de riesgo. Esto limita la potencia estadística de los resultados, presentando estos un mayor sesgo. Por este motivo, se sugiere, además de elaborar una base de datos de mayor tamaño, incidiendo en incrementar la homogeneidad de esta.

Por último, una limitación fundamental de este estudio es la realización del trabajo con tres SNPs sin una asociación directa con los procesos fisiológicos inmunomodulatorios. En dos de los SNPs dicha asociación está basada en su relación con la esquizofrenia y en el otro SNP está basada en su relación con la enfermedad de las arterias coronarias. El hecho de contar solo con tres alteraciones genéticas hace que el número de conclusiones obtenidas sea menor y, en consecuencia, sea más difícil generalizar con alteraciones similares. Por otra parte, la elección de los SNPs en base a otros procesos fisiológicos supone una pérdida de consistencia en el impacto de estos. Por este motivo, resulta interesante la realización de este estudio con un mayor número de SNPs, para obtener así una mayor consistencia en los resultados. También se sugiere la realización de este estudio con SNPs directamente relacionados con los procesos fisiológicos inmunomodulatorios.

7.3 Cumplimiento de los objetivos del trabajo de fin de grado

El objetivo de este TFG es comprobar si existen diferencias en los valores de conectividad funcional entre sujetos portadores de diversas variantes de micro-ARN relacionadas con la inmunomodulación. Para conseguir este objetivo, en el primer capítulo se establecieron una serie de objetivos a cumplir en la realización de este trabajo. A continuación, se evalúa el cumplimiento de estos:

- i.** Se ha hecho una revisión del estado del arte sobre la EA, micro-ARN y SNPs asociados a la inmunomodulación.
- ii.** Se ha analizado la base de datos proporcionada y se ha realizado una búsqueda sobre variaciones genéticas en micro-ARN inmunomodulatorios.
- iii.** Se ha verificado la presencia de los SNPs encontrados en la base de datos.

- iv. Se ha implementado la métrica de conectividad del PLI a los registros de EEG.
- v. Se ha llevado a cabo una recopilación y análisis de los resultados que ha permitido extraer conclusiones acerca de la relación entre la conectividad funcional de los distintos genotipos a lo largo del continuo de la EA, planteando limitaciones y futuras líneas de investigación del estudio.

7.4 Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que **existen diferencias significativas en los valores de conectividad funcional entre sujetos portadores de un alelo de riesgo y un alelo protector de los SNPs rs2910164 y rs1625579, localizados en el miR-146 y miR-132 respectivamente. Estas diferencias acontecen en la banda alfa del estadio HC, en las bandas beta y gamma del estadio DCL, en la banda gamma del estadio ADMILD y a lo largo de la EA en una banda global de 1-70 Hz.**

Los resultados expuestos y la discusión acerca de estos permiten establecer una serie de conclusiones.

1. Los alelos de riesgo de los SNPs rs1625579 y rs2910164 parecen ejercer una regulación positiva del miR-132 y miR-146 respectivamente, de manera que sus portadores puedan desarrollar una neuroprotección frente a la EA. Por este motivo, los sujetos con el alelo protector podrían presentar valores de PLI significativamente más altos que los sujetos con el alelo protector en ambos SNPs. Por el contrario, el alelo de riesgo y el alelo protector del SNP rs1198588 localizado en el miR-132 no presentan prácticamente diferencias en los valores de PLI. Esto podría deberse a que este SNP no modifica el funcionamiento del miR-132 de manera que sea apreciable en términos de conectividad funcional.
2. Los SNPs rs1625579 y rs2910164 en la banda de frecuencia global (1-70 Hz) presentan diferencias en la conectividad funcional entre los sujetos que contienen el alelo de riesgo y protector en los estadios HC y DCL, pero en los estadios ADMILD, ADMOD y ADSEV estas diferencias disminuyen significativamente. Esto podría deberse a que, en las fases preclínicas, ambos SNPs podrían estar generando un efecto protector frente a la EA; en cambio, una vez instaurada la EA se ha producido en ambos grupos el efecto de síndrome de desconexión característico de esta enfermedad.
3. Los SNPs rs1625579 y rs2910164 en la banda de frecuencia alfa del estadio HC presentan valores de PLI significativamente más altos en los sujetos con el alelo de riesgo que en los sujetos con el alelo protector. Esto podría deberse a que estos SNPs podrían estar ejerciendo una protección frente a la inflamación y la EA, de manera que esto se muestre mediante la presencia de valores de PLI mayores en los sujetos con el alelo de riesgo.

4. Los SNPs rs1625579 y rs2910164 en las bandas de frecuencia beta y gamma del estadio DCL muestran valores de PLI significativamente más altos en los sujetos con el alelo de riesgo que en los sujetos con el alelo protector. Esto podría ser el resultado del efecto de los mecanismos de compensación propios de esta etapa, que generan un aumento anormal de la conectividad funcional en los sujetos con el alelo de riesgo.
5. El SNP rs1625579 en la banda de frecuencia gamma del estadio ADMILD manifiestan valores de PLI significativamente más altos en los sujetos con el alelo protector que en los sujetos con el alelo de riesgo. Esto podría deberse a la influencia opuesta que provocan estos alelos en esta banda y estado cognitivo concreto.

Bibliografía

- Abad Martín, A. (2020). Aplicación de técnicas de deep learning en la ayuda al diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. In *UvaDOC*. <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/43256>
- Afzal, S., Maqsood, M., Khan, U., Mehmood, I., Nawaz, H., Aadil, F., Song, O.-Y., & Nam, Y. (2021). Alzheimer Disease Detection Techniques and Methods: A Review. *International Journal of Interactive Multimedia and Artificial Intelligence*, 6(7), 1–13. <https://doi.org/10.9781/ijimai.2021.04.005>
- Alzheimer's Association. (2024). *2024 Alzheimer's Disease Facts and Figures. Alzheimer's and dementia*. 20(5), 5–90. <https://www.alz.org/media/documents/alzheimers-facts-and-figures.pdf>
- Ashraf, A., Fan, Z., Brooks, D. J., & Edison, P. (2015). Cortical hypermetabolism in MCI subjects: a compensatory mechanism? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 42(3), 447–458. <https://doi.org/10.1007/S00259-014-2919-Z/TABLES/7>
- 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. <https://doi.org/10.1007/S41870-018-0165-5>
- Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., & Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, 377(9770), 1019–1031. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61349-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61349-9)
- Becker, J. T., Mintun, M. A., Aleva, K., Wiseman, M. B., Nichols, T., & DeKosky, S. T. (1996). Compensatory reallocation of brain resources supporting verbal episodic memory in Alzheimer's disease. *Neurology*, 46(3), 692–700. <https://doi.org/10.1212/WNL.46.3.692/ASSET/3A436CE8-C5EF-4169-9137-DF6521D8D355/ASSETS/WNL.46.3.692.FP.PNG>
- Belloy, M. E., Napolioni, V., & Greicius, M. D. (2019). A Quarter Century of APOE and Alzheimer's Disease: Progress to Date and the Path Forward. *Neuron*, 101(5), 820–838. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2019.01.056>
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society*, 57(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/J.2517-6161.1995.TB02031.X>
- Bondi, M. W., Edmonds, E. C., & Salmon, D. P. (2017). Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS*, 23(9–10), 818–831. <https://doi.org/10.1017/S135561771700100X>
- Breijyeh, Z., Karaman, R., Muñoz-Torrero, D., & Dembinski, R. (2020). Molecules comprehensive review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24), 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>

- Briels, C. T., Briels, C. T., Schoonhoven, D. N., Schoonhoven, D. N., Stam, C. J., De Waal, H., Scheltens, P., & Gouw, A. A. (2020). Reproducibility of EEG functional connectivity in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research and Therapy*, *12*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S13195-020-00632-3/TABLES/3>
- Bronzino, J. D., & Peterson, D. R. (2006). Biomedical Engineering Fundamentals. In *Biomedical Engineering Fundamentals*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420003857/BIOMEDICAL-ENGINEERING-FUNDAMENTALS-JOSEPH-BRONZINO>
- Brosius, J., Raabe, C. A., & Urgen Brosius, J. (2016). RNA Biology What is an RNA? A top layer for RNA classification What is an RNA? A top layer for RNA classification. *RNA Biology*, *13*(2), 140–144. <https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1128064>
- Cacace, R., Slegers, K., & Van Broeckhoven, C. (2016). Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's & Dementia*, *12*(6), 733–748. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.01.012>
- Chanock, S., & Taylor VI, J. G. (2002). Using genetic variation to study immunomodulation. *Current Opinion in Pharmacology*, *2*(4), 463–469. [https://doi.org/10.1016/S1471-4892\(02\)00186-8](https://doi.org/10.1016/S1471-4892(02)00186-8)
- Christensen K, & Murray JC. (2007). What Genome-wide Association Studies Can Do for Medicine. In *The New England Journal of Medicine* (Vol. 1, pp. 1094–1097). <https://doi.org/10.1056/NEJMp068126>
- Cohen, M. X. (2017). Where Does EEG Come From and What Does It Mean? *Trends in Neurosciences*, *40*(4), 208–218. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2017.02.004>
- Cruz-Rodríguez, A. M., & Sánchez-Machet, H. (2021). Prótesis de mano controlada con señales EEG. *MOMENTO*, *2021*(63), 34–51. <https://doi.org/10.15446/mo.n63.96407>
- Cummings, J. L. (2004). Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*, *351*(1), 56–67. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA040223>
- D'Atri, A., Scarpelli, S., Gorgoni, M., Truglia, I., Lauri, G., Cordone, S., Ferrara, M., Marra, C., Rossini, P. M., & De Gennaro, L. (2021). EEG alterations during wake and sleep in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *IScience*, *24*(4), 102386. <https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2021.102386>
- Dauwels, J., Srinivasan, K., Ramasubba Reddy, M., Musha, T., Vialatte, F. B., Latchoumane, C., Jeong, J., & Cichocki, A. (2011). Slowing and Loss of Complexity in Alzheimer's EEG: Two Sides of the Same Coin? *International Journal of Alzheimer's Disease*, 1–11. <https://doi.org/10.4061/2011/539621>
- Davatzikos, C., Bhatt, P., Shaw, L. M., Batmanghelich, K. N., & Trojanowski, J. Q. (2011). Prediction of MCI to AD conversion, via MRI, CSF biomarkers, and pattern classification. *Neurobiology of Aging*, *32*(12), 2322.e19-2322.e27. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2010.05.023>

- Debener, S., Thorne, J., & Schneider, T. R. (2011). Using ICA for the Analysis of Multi-Channel EEG Data Filipa Campos Viola Introduction. In *Analysis* (Vol. 1, Issue March).
https://books.google.com/books/about/Simultaneous_EEG_and_FMRI.html?hl=es&id=yo4UDAAAQBAJ
- Deture, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, *14*(32). <https://doi.org/10.1186/S13024-019-0333-5>
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavedo, E., Crutch, S., Dartigues, J. F., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G. B., Gauthier, S., Genthon, R., ... Jack, C. R. (2016). Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*, *12*(3), 292–323.
<https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2016.02.002>
- Durazzo, T. C., Mattsson, N., & Weiner, M. W. (2014). Smoking and increased Alzheimer's disease risk: a review of potential mechanisms. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, *10*, S122–S145.
<https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2014.04.009>
- Edwards, D., Forster, J. W., Chagné, D., & Batley, J. (2007). What Are SNPs? In *Association Mapping in Plants* (Vol. 1). Springer, New York, NY.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-36011-9_3
- Fairfax, B. P., Humburg, P., Makino, S., Naranbhai, V., Wong, D., Lau, E., Jostins, L., Plant, K., Andrews, R., Mcgee, C., & Knight, J. C. (2014). Innate Immune Activity Conditions the Effect of Regulatory Variants upon Monocyte Gene Expression. *Science*, *343*(6175), 1246949. <https://doi.org/10.1126/science.1246949>
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). “Mini-mental state”: A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, *12*(3), 189–198. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6)
- Gea-Banacloche, J. C. (2006). Immunomodulation. In *Principles of Molecular Medicine* (Vol. 1). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-963-9_92
- Gutiérrez de Pablo, V. (2021). Análisis multimodal para la caracterización exhaustiva de la huella fisiopatológica de la enfermedad de Alzheimer. In *UvaDOC*.
<https://uvadoc.uva.es/handle/10324/50051>
- Hamer, M., & Chida, Y. (2009). Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychological Medicine*, *39*(1), 3–11.
<https://doi.org/10.1017/S0033291708003681>
- Hata, M., Kazui, H., Tanaka, T., Ishii, R., Canuet, L., Pascual-Marqui, R. D., Aoki, Y., Ikeda, S., Kanemoto, H., Yoshiyama, K., Iwase, M., & Takeda, M. (2016). Functional connectivity assessed by resting state EEG correlates with cognitive decline of Alzheimer's disease – An eLORETA study. *Clinical Neurophysiology*, *127*(2), 1269–1278. <https://doi.org/10.1016/J.CLINPH.2015.10.030>

- Heneka, M. T., Carson, M. J., Khoury, J. El, Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., Jacobs, A. H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R. M., Herrup, K., Frautschy, S. A., Finsen, B., Brown, G. C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., ... Kummer, M. P. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, *14*(4), 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Hong, Y., Xu, J., Hu, Y., Li, L., Dong, Z., Zhu, T., & Yan-qiu. (2018). Neuroinflammation and Neuroimmunomodulation in Alzheimer's Disease. *Current Pharmacology Reports*, *4*, 408–413. <https://doi.org/10.1007/s40495-018-0148-z>
- Huang, C. W., Lui, C. C., Chang, W. N., Lu, C. H., Wang, Y. L., & Chang, C. C. (2009). Elevated basal cortisol level predicts lower hippocampal volume and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*, *16*(10), 1283–1286. <https://doi.org/10.1016/J.JOCN.2008.12.026>
- 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., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., ... Silverberg, N. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, *14*(4), 535–562. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2018.02.018>
- Jafari, Z., Kolb, B. E., & Mohajerani, M. H. (2020). Neural oscillations and brain stimulation in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, *194*, 101878. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2020.101878>
- Jeker, L. T., & Marone, R. (2015). Targeting microRNAs for immunomodulation. *Current Opinion in Pharmacology*, *23*, 25–31. <https://doi.org/10.1016/J.COPH.2015.05.004>
- Jeong, J. (2004). EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*, *115*(7), 1490–1505. <https://doi.org/10.1016/J.CLINPH.2004.01.001>
- Karch, C. M., & Goate, A. M. (2015). Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. *Biological Psychiatry*, *77*(1), 43–51. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2014.05.006>
- Ko, S.-Y., Ko, H.-A., Chu, K.-H., Shieh, T.-M., Chi, T.-C., Chen, H.-I., Chang, W.-C., & Chang, S.-S. (2015). The Possible Mechanism of Advanced Glycation End Products (AGEs) for Alzheimer's Disease. *PLoS ONE*, *10*(11), e0143345. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143345>
- Koedam, E. L. G. E., Lauffer, V., Van Der Vlies, A. E., Van Der Flier, W. M., Scheltens, P., & Pijnenburg, Y. A. L. (2010). Early-Versus Late-Onset Alzheimer's Disease: More than Age Alone. *Journal of Alzheimer's Disease*, *19*(4), 1401–1408. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1337>

- Kong, H., Yin, F., He, F., Omran, A., Li, L., Wu, T., Wang, Y., & Peng, J. (2015). The Effect of miR-132, miR-146a, and miR-155 on MRP8/TLR4-Induced Astrocyte-Related Inflammation. *Journal of Molecular Neuroscience*, *57*(1), 28–37. <https://doi.org/10.1007/S12031-015-0574-X/FIGURES/6>
- Kuswanto, C. N., Sum, M. Y., Qiu, A., Sitoh, Y. Y., Liu, J., & Sim, K. (2015). The impact of genome wide supported microRNA-137 (MIR137) risk variants on frontal and striatal white matter integrity, neurocognitive functioning, and negative symptoms in schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, *168*(5), 317–326. <https://doi.org/10.1002/AJMG.B.32314>
- Lambert, J. C., Heath, S., Even, G., Campion, D., Sleegers, K., Hiltunen, M., Combarros, O., Zelenika, D., Bullido, M. J., Tavernier, B., Letenneur, L., Bettens, K., Berr, C., Pasquier, F., Fiévet, N., Barberger-Gateau, P., Engelborghs, S., De Deyn, P., Mateo, I., ... Amouyel, P. (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, *41*(10), 1094–1099. <https://doi.org/10.1038/NG.439>
- Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., Jun, G., DeStefano, A. L., Bis, J. C., Beecham, G. W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thornton-Wells, T. A., Jones, N., Smith, A. V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M. A., Zelenika, D., ... Seshadri, S. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nature*, *45*(12), 1452–1458. <https://doi.org/10.1038/NG.2802>
- Lenartowicz, A., & Loo, S. K. (2014). Use of EEG to Diagnose ADHD. *Current Psychiatry Reports*, *16*(11), 1–11. <https://doi.org/10.1007/S11920-014-0498-0/TABLES/2>
- Li, X., Song, D., & Leng, S. X. (2015). Clinical Interventions in Aging Dovepress Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. *Clinical Interventions in Aging*, *10*(2015), 549–560. <https://doi.org/10.2147/CIA.S74042>
- Liang, C., Zou, T., Zhang, M., Fan, W., Zhang, T., Jiang, Y., Cai, Y., Chen, F., Chen, X., Sun, Y., Zhao, B., Wang, Y., & Cui, L. (2021). MicroRNA-146a switches microglial phenotypes to resist the pathological processes and cognitive degradation of Alzheimer's disease. *Theranostics*, *11*(9), 4103. <https://doi.org/10.7150/THNO.53418>
- Llibre-Rodríguez, J. de J., Gutiérrez Herrera, R., Guerra Hernández, M. A., Llibre-Rodríguez, J. de J., Gutiérrez Herrera, R., & Guerra Hernández, M. A. (2022). Enfermedad de Alzheimer: actualización en su prevención, diagnóstico y tratamiento. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, *21*(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2022000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=en

- Lutz, M. W., & Chiba-Falek, O. (2022). Bioinformatics pipeline to guide late-onset Alzheimer's disease (LOAD) post-GWAS studies: Prioritizing transcription regulatory variants within LOAD-associated regions. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 8(1), e12244. <https://doi.org/10.1002/TRC2.12244>
- Maccioni, R. B., Rojo, L. E., Fernández, J. A., Fernández, F., & Kuljis, R. O. (2009). The Role of Neuroimmunomodulation in Alzheimer's Disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1153(1), 240–246. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2008.03972.x>
- Macedo, A., Gómez, C., Rebelo, M. Â., Poza, J., Gomes, I., Martins, S., Maturana-Candelas, A., Gutiérrez-De Pablo, V., Durães, L., Sousa, P., Figueruelo, M., Rodríguez, M., Pita, C., Arenas, M., Álvarez, L., Hornero, R., Lopes, A. M., & Pinto, N. (2021). Risk Variants in Three Alzheimer's Disease Genes Show Association with EEG Endophenotypes. *Journal of Alzheimer's Disease*, 80(1), 209–223. <https://doi.org/10.3233/JAD-200963>
- Maestú, F., Cuesta, P., Hasan, O., Fernández, A., Funke, M., & Schulz, P. E. (2019). The importance of the validation of M/EEG with current biomarkers in Alzheimer's disease. *Frontiers in Human Neuroscience*, 13(17), 431–804. <https://doi.org/10.3389/FNHUM.2019.00017/BIBTEX>
- Mann, H. B., & Whitney, D. R. (1947). On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *Project Euclid*, 18(1), 50–60. <https://doi.org/10.1214/AOMS/1177730491>
- Mannan, M. M. N., Kamran, M. A., & Jeong, M. Y. (2018). Identification and removal of physiological artifacts from electroencephalogram signals: A review. *IEEE Access*, 6, 30630–30652. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2018.2842082>
- Martin, N. A., Hyrlov, K. H., Elkjaer, M. L., Thygesen, E. K., Wlodarczyk, A., Elbaek, K. J., Aboo, C., Okarmus, J., Benedikz, E., Reynolds, R., Hegedus, Z., Stensballe, A., Svenningsen, Å. F., Owens, T., & Illes, Z. (2020). Absence of miRNA-146a Differentially Alters Microglia Function and Proteome. *Frontiers in Immunology*, 11(1), 1110. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01110/FULL>
- Maturana-Candelas, A., Gómez, C., Poza, J., Pinto, N., & Hornero, R. (2019). EEG Characterization of the Alzheimer's Disease Continuum by Means of Multiscale Entropies. *Entropy*, 21(6), 544. <https://doi.org/10.3390/E21060544>
- Maturana-Candelas, A., Gómez, C., Poza, J., Rodríguez-González, V., Pablo, V. G., Lopes, A. M., Pinto, N., & Hornero, R. (2021). Influence of PICALM and CLU risk variants on beta EEG activity in Alzheimer's disease patients. *Scientific Reports*, 11(1), 20465. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99589-y>
- McKnight, P. E., & Najab, J. (2010). Mann-Whitney U Test . *The Corsini Encyclopedia of Psychology*, 1–1. <https://doi.org/10.1002/9780470479216.CORPSY0524>
- National Institute on Aging. (2024). ¿Cómo se diagnostica la enfermedad del Alzheimer? National Institute on Aging. <https://www.nia.nih.gov/espanol/enfermedad-alzheimer/enfermedad-alzheimer#diagnostica>

- Nobukawa, S., Yamanishi, T., Kasakawa, S., Nishimura, H., Kikuchi, M., & Takahashi, T. (2020). Classification Methods Based on Complexity and Synchronization of Electroencephalography Signals in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Psychiatry*, *11*(255), 511787. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2020.00255/BIBTEX>
- Núñez, P., Poza, J., Bachiller, A., Gomez-Pilar, J., Lubeiro, A., Molina, V., & Hornero, R. (2017). Exploring non-stationarity patterns in schizophrenia: neural reorganization abnormalities in the alpha band. *Journal of Neural Engineering*, *14*(4), 1741–2552. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/AA6E05>
- Núñez, P., Poza, J., Gómez, C., Rodríguez-González, V., Hillebrand, A., Tola-Arribas, M. A., Cano, M., & 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), 056030. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/AB234B>
- Ouchani, M., Gharibzadeh, S., Jamshidi, M., & Amini, M. (2021). A Review of Methods of Diagnosis and Complexity Analysis of Alzheimer's Disease Using EEG Signals. *BioMed Research International*, *5425569*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2021/5425569>
- Peck, K. M., & Luring, A. S. (2018). Complexities of Viral Mutation Rates. *Journal of Virology*, *92*(14), jvi.01031-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01031-17>
- Pérez Trullen, J. M. ^a. (2007). La descripción de los ovillos neurofibrilares en la enfermedad de Alzheimer. *Revista Española de Patología*, *40*(1), 60–65. [https://doi.org/10.1016/S1699-8855\(07\)70058-2](https://doi.org/10.1016/S1699-8855(07)70058-2)
- Petersen, R. C., & Negash, S. (2008). Mild cognitive impairment: an overview. *CNS Spectrums*, *13*(1), 45–53. <https://doi.org/10.1017/S1092852900016151>
- Pichler, S., Gu, W., Hartl, D., Gasparoni, G., Leidinger, P., Keller, A., Meese, E., Mayhaus, M., Hampel, H., & Riemenschneider, M. (2017). The miRNome of Alzheimer's disease: consistent downregulation of the miR-132/212 cluster. *Neurobiology of Aging*, *50*, 167.e1-167.e10. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2016.09.019>
- Ponomareva, N., Andreeva, T., Protasova, M., Konovalov, R., Krotenkova, M., Malina, D., Mitrofanov, A., Fokin, V., Illarioshkin, S., & 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. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2020.00324>
- Popadynets', O., Gozhenko, A., Badiuk, N., Zukow, W., Kovbasnyuk, M., Korolyshyn, T., & Popovych, I. (2020). Relationships between changes in entropy of the EEG and parameters of the immunity. *Pedagogy and Psychology of Sport*, *6*(1), 24–40. <https://doi.org/10.12775/PPS.2020.06.01.003>

- Porsteinsson, A. P., Isaacson, R. S., Knox, S., Sabbagh, M. N., & Rubino, I. (2021). Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8(3), 371–386. <https://doi.org/10.14283/JPAD.2021.23/TABLES/3>
- Rabameda-Bueno, R., Mena-Montes, B., Torres-Castro, S., Torres-Carrillo, N., & Torres-Carrillo, N. M. (2021). Advances in genetics and epigenetic alterations in alzheimer's disease: A notion for therapeutic treatment. *Genes*, 12(12), 1959. <https://doi.org/10.3390/GENES12121959/S1>
- Reisberg, B., Ferris, S. H., De Leon, M. J., & Crook, T. (1982). The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *The American Journal of Psychiatry*, 139(9), 1136–1139. <https://doi.org/10.1176/AJP.139.9.1136>
- Ridge, P. G., Mukherjee, S., Crane, P. K., & Kauwe, J. S. K. (2013). Alzheimer's Disease: Analyzing the Missing Heritability. *PLoS ONE*, 8(11), e79771. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0079771>
- Riedel, B. C., Thompson, P. M., & Brinton, R. D. (2016). Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160, 134–147. <https://doi.org/10.1016/J.JSBMB.2016.03.012>
- Roy, J., & Mallick, B. (2017). Altered gene expression in late-onset Alzheimer's disease due to SNPs within 3'UTR microRNA response elements. *Genomics*, 109(3–4), 177–185. <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2017.02.006>
- Rubinov, M., & Sporns, O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage*, 52(3), 1059–1069. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.10.003>
- Ruiz-Gómez, S. J., Gómez, C., Poza, J., Martínez-Zarzuela, M., Tola-Arribas, M. A., Cano, M., & Hornero, R. (2018). Measuring Alterations of Spontaneous EEG Neural Coupling in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment by Means of Cross-Entropy Metrics. *Frontiers in Neuroinformatics*, 12(76), 10.3389. <https://doi.org/10.3389/FNINF.2018.00076>
- Ruiz-Gómez, S. J., Hornero, R., Poza, J., Maturana-Candelas, A., Pinto, N., & 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), 066019. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/AB4024>
- Rybak-Wolf, A., Plass, M., Segura, I., & Fernandez-Moya, S. M. (2021). RNA Dynamics in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 26(17), 5113. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26175113>
- Salta, E., & De Strooper, B. (2017). microRNA-132: a key noncoding RNA operating in the cellular phase of Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, 31(2), 424–433. <https://doi.org/10.1096/FJ.201601308>
- Sanei, S., & Chambers, J. A. (2013). EEG Signal Processing. In *EEG Signal Processing*. John Wiley and Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470511923>

- Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D., St. George-Hyslop, P. H., Pericak-Vance, M. A., Joo, S. H., Rosi, B. L., Gusella, J. F., Crapper-Mac Lachlan, D. R., Alberts, M. J., Hulette, C., Crain, B., Goldgaber, D., & Roses, A. D. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, *43*(8), 1467–1472. <https://doi.org/10.1212/WNL.43.8.1467>
- Sazgar, M., & Young, M. G. (2019). EEG Artifacts. *Absolute Epilepsy and EEG Rotation Review*. Springer, 149–162. https://doi.org/10.1007/978-3-030-03511-2_8
- Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M. B., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., & Van der Flier, W. M. (2016). Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, *388*(10043), 505–517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1)
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., & Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *1*(1), 1–24. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006189>
- Shi, L., Chen, S. J., Ma, M. Y., Bao, Y. P., Han, Y., Wang, Y. M., Shi, J., Vitiello, M. V., & Lu, L. (2018). Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, *40*, 4–16. <https://doi.org/10.1016/J.SMRV.2017.06.010>
- Silva, M. V. F., Loures, C. D. M. G., Alves, L. C. V., De Souza, L. C., Borges, K. B. G., & Carvalho, M. D. G. (2019). Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science 2019 26:1*, *26*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12929-019-0524-Y>
- Skoog, I., & Gustafson, D. (2006). Update on hypertension and Alzheimer's disease. *Neurological Research*, *28*(6), 605–611. <https://doi.org/10.1179/016164106X130506>
- Smith, S. J. M., & Smith, S. (2005). EEG in the diagnosis, classification, and management of patients with epilepsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *76*(suppl 2), ii2–ii7. <https://doi.org/10.1136/JNNP.2005.069245>
- Staessen, J. A., Richart, T., & Birkenhäger, W. H. (2007). Less atherosclerosis and lower blood pressure for a meaningful life perspective with more brain. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, *49*(3), 389–400. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000258151.00728.D8>
- Stam, C. J., Nolte, G., & Daffertshofer, A. (2007). Phase lag index: Assessment of functional connectivity from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Human Brain Mapping*, *28*(11), 1178–1193. <https://doi.org/10.1002/HBM.20346>
- Stam, C. J., & van Straaten, E. C. W. (2012). The organization of physiological brain networks. *Clinical Neurophysiology*, *123*(6), 1067–1087. <https://doi.org/10.1016/J.CLINPH.2012.01.011>

- Strzelec, M., Detka, J., Mieszczak, P., Sobocińska, M. K., & Majka, M. (2023). Immunomodulation—a general review of the current state-of-the-art and new therapeutic strategies for targeting the immune system. *Frontiers in Immunology*, *14*(1), 1127704. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1127704/BIBTEX>
- Subramanian, N., Torabi-Parizi, P., Gottschalk, R. A., Germain, R. N., & Dutta, B. (2015). Network representations of immune system complexity. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, *7*(1), 13–38. <https://doi.org/10.1002/WSBM.1288>
- Swarbrick, S., Wragg, N., Ghosh, S., & Stolzing, A. (2019). Systematic Review of miRNA as Biomarkers in Alzheimer’s Disease. *Molecular Neurobiology*, *56*, 6156–6167. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1500-y>
- Tanzi, R. E. (2012). The Genetics of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(10), 2:a006296. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006296>
- Torrego, M., Supervisor, G., Gómez, C., Advisor, P., Luis, J., & Álvarez, R. (2023). Effects of genetics on the neurodynamics of Alzheimer’s disease patients. In *URJC*. <https://ciencia.urjc.es/handle/10115/22796>
- Villegas-Llerena, C., Phillips, A., Reitboeck, P. G., Hardy, J., & Pocock, J. M. (2016). Microglial genes regulating neuroinflammation in the progression of Alzheimer’s disease. *Current Opinion in Neurobiology*, *36*, 74–81. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2015.10.004>
- Vinícius, M., Silva, F., De Mello, C., Loures, G., Carlos, L., Alves, V., Cruz De Souza, L., Braga, K., Borges, G., Das, M., & Carvalho, G. (2019). Alzheimer’s disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science*, *26*(33). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- Walgrave, H., Zhou, L., De Strooper, B., & Salta, E. (2021). The promise of microRNA-based therapies in Alzheimer’s disease: challenges and perspectives. *Molecular Neurodegeneration*, *16*(76). <https://doi.org/10.1186/s13024-021-00496-7>
- Walker, K. A., Gross, A. L., Moghekar, A. R., Soldan, A., Pettigrew, C., Hou, X., Lu, H., Alfini, A. J., Bilgel, M., Miller, M. I., Albert, M. S., & Walston, J. (2020). Association of peripheral inflammatory markers with connectivity in large-scale functional brain networks of non-demented older adults. *Brain, Behavior, and Immunity*, *87*(1), 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.01.006>
- Xia, M., Wang, J., & He, Y. (2013). BrainNet Viewer: A Network Visualization Tool for Human Brain Connectomics. *PLoS ONE*, *8*(7), e68910. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0068910>
- Xiong, X. dong, Cho, M., Cai, X. ping, Cheng, J., Jing, X., Cen, J. ming, Liu, X., Yang, X. li, & Suh, Y. (2014). A common variant in pre-miR-146 is associated with coronary artery disease risk and its mature miRNA expression. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *761*, 15–20. <https://doi.org/10.1016/J.MRFMMM.2014.01.001>

- Xue-Shan, Z., Juan, P., Qi, W., Zhong, R., Li-hong, P., Zhi-han, T., Zhi-Sheng, J., Gui-xue, W., & Lu-Shan, L. (2016). Imbalanced cholesterol metabolism in Alzheimer's disease. *International Journal of Clinical Chemistry*, *456*, 107–114. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2016.02.024>
- Zeng, C., Meng, X., Mai, D., Xu, K., & Qu, S. (2022). Overexpression of miR-132-3p contributes to neuronal protection in in vitro and in vivo models of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, *417*, 113584. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2021.113584>
- Zhang, B., Wang, A., Xia, C., Lin, Q., & Chen, C. (2015). A single nucleotide polymorphism in primary-microRNA-146a reduces the expression of mature microRNA-146a in patients with Alzheimer's disease and is associated with the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Molecular Medicine Reports*. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2015.3968?text=fulltext#>
- Zhang, P., Bian, Y., Liu, N., Tang, Y., Pan, C., Hu, Y., & Tang, Z. (2016). The SNP rs1625579 in miR-137 gene and risk of schizophrenia in Chinese population: A meta-analysis. *Comprehensive Psychiatry*, *67*, 26–32. <https://doi.org/10.1016/J.COMPPSYCH.2016.02.009>
- Zhan-qiang, H., Hai-hua, Q., Chi, Z., Miao, W., Cui, Z., Zi-yin, L., Jing, H., & Yi-wei, W. (2023). miR-146a aggravates cognitive impairment and Alzheimer disease-like pathology by triggering oxidative stress through MAPK signaling. *Neurología*, *38*(7), 486–494. <https://doi.org/10.1016/J.NRL.2020.12.006>
- Zhu, X. C., Tan, L., Wang, H. F., Jiang, T., Cao, L., Wang, C., Wang, J., Tan, C. C., Meng, X. F., & Yu, J. T. (2015). Rate of early onset Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Translational Medicine*, *3*(3), 38. <https://doi.org/10.3978/J.ISSN.2305-5839.2015.01.19>
- Zhu, X. C., Yu, J. T., Jiang, T., Wang, P., Cao, L., & Tan, L. (2015). CR1 in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, *51*(2), 753–765. <https://doi.org/10.1007/S12035-014-8723-8/FIGURES/2>
- Zlokovic, B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*, 723–738. <https://doi.org/10.1038/nrn3114>

Glosario de siglas y acrónimos

Aβ	<i>Proteína beta-amiloide</i>
AChEIs	<i>Inhibidores de la enzima colinesterasa</i>
ADMIL	<i>Mild Alzheimer Disease</i>
ADMOD	<i>Moderate Alzheimer Disease</i>
ADN	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
ADSEV	<i>Severe Alzheimer Disease</i>
AEC	<i>Amplitude Envelope Correlation</i>
ARN	<i>Ácido ribonucleico</i>
ARNm	<i>ARN mensajero</i>
DCL	<i>Mild cognitive impairment</i>
DE	<i>Desviación estándar</i>
EA	<i>Enfermedad del Alzheimer</i>
EEG	<i>Electroencefalograma</i>
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
GWAS	<i>Estudios de asociación de genoma completo</i>
HC	<i>Sanos</i>
ICA	<i>Análisis de componentes independientes</i>
LCR	<i>Líquido cefalorraquídeo</i>
micro-ARN	<i>Micro-ARN</i>
MMSE	<i>Mini-Mental State Examination</i>
NDMA	<i>N-metil d-aspartato</i>
NIA-AA	<i>National Institute on Aging and Alzheimer's Association</i>
PLI	<i>Phase Lag Index</i>
PPSE	<i>Potenciales postsinápticos excitatorios</i>
PPSI	<i>Potenciales postsinápticos inhibitorios</i>
PR	<i>Potencia relativa</i>
P-tau	<i>Proteína tau</i>
SNC	<i>Sistema nervioso central</i>
SNP	<i>Polimorfismo genético de nucleótido único</i>