



Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

**Caracterización de la transición entre estados de salud
usando correlaciones espaciales y temporales de la señal
cerebral de resonancia magnética funcional (fMRI) y de
difusión (dMRI)**

Tesis presentada para optar al título de Doctora de la Universidad
de Buenos Aires en el área de Ciencias Físicas

Lic. Stella Maris Sánchez

Directora: Dra. Mirta F. Villarreal

Director adjunto: Dr. Salvador M. Guinjoan

Consejero de estudios: Dr. Fernando Minotti

Lugar de trabajo: Instituto de Neurociencias (FLENI-CONICET)

Fecha de defensa: 26 de Mayo de 2021

Buenos Aires, Abril de 2021

Resumen

Caracterización de la transición entre estados de salud usando correlaciones espaciales y temporales de la señal cerebral de resonancia magnética funcional (fMRI) y de difusión (dMRI)

Caracterizar el funcionamiento y la estructura del cerebro humano conforma uno de los desafíos más interesantes desde tiempos inmemoriales. Entender sus posibles estados y alteraciones a partir de las bases del conocimiento presenta infinidad de obstáculos, algunos de los cuales han podido sortearse. Los avances en materia científica y tecnológica del siglo XX, permitieron un abordaje prometedor en este campo, siendo sin lugar a dudas la técnica de imágenes por resonancia magnética nuclear (MRI) la más prometedora para el estudio del cerebro, constituyendo un claro ejemplo del alcance de la Física a otras disciplinas, como lo es la Medicina. Este tipo de métodos tienen un rol fundamental en los estudios interdisciplinarios ya que empujan constantemente los límites de la ciencia y la tecnología.

El principal objetivo de esta Tesis es implementar técnicas de imágenes de difusión de MRI (dMRI) e imágenes funcionales en estado de reposo (fMRI) para evaluar posibles anomalías presentes en la microestructura de fibras nerviosas de sustancia blanca, y en las conectividades funcional y estructural en personas en riesgo genético de padecer la enfermedad de Alzheimer (AD). Con este propósito, se expandieron las métricas ya conocidas para fMRI y dMRI de modo tal de definir posibles predictores de la enfermedad.

Para llevarlo a cabo, se ha explorado una muestra de sujetos adultos cognitivamente asintomáticos, pero con antecedentes de la AD en familiares de primer grado, mediante diversas metodologías. Se ha estudiado la arquitectura de las vías que conectan las áreas cerebrales que se ven primeramente afectadas durante la enfermedad mediante el análisis de dMRI. Se caracterizaron también la conectividad funcional y estructural de esta muestra de sujetos y se las comparó con la de un grupo de personas demográficamente equiparables pero sin antecedentes familiares de AD. Además, se asociaron estos aspectos con variables comportamentales y con la morfología de regiones cerebrales de especial interés para la enfermedad. Por último, se buscó construir una métrica que cuantifique el acoplamiento entre las dos conectividades previamente obtenidas, funcional y estructural.

Las técnicas puestas a prueba para el estudio de la sustancia blanca han revelado una alteración en su integridad en el grupo de estudio en comparación al grupo control. Este deterioro se observó en la región posterior del cuerpo caloso, un gran haz de fibras que conecta transversalmente los dos hemisferios cerebrales, y una pequeña porción del fórnix derecho. Llamativamente, las conexiones que forman parte de este sector deteriorado de sustancia blanca involucran regiones que se ven afectadas por la AD. Por su parte, se hallaron también diferencias en la conectividad funcional obtenida a partir de la corteza entorrinal, viéndose disminuida en el grupo con antecedentes familiares de AD. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la conectividad funcional a partir de los núcleos talámicos anterodorsales ni en la conectividad estructural global. Finalmente, se logró una métrica que describe el acoplamiento de las conectividades en distintos enfoques: por grupo de estudio, por región de interés y por pares de conexión. Para este último caso se han encontrado no sólo pares de conexión de regiones cuyo acoplamiento de conectividades es estadísticamente diferente entre grupos, sino también conexiones con acoplamiento significativo en el grupo control y no en el grupo asociado a la AD, marcando una potencial deficiencia.

Replicar los resultados aquí presentados en otras muestras similares de sujetos con antecedentes familiares de primer orden podría resultar en importantes implicancias para la definición de la conectividad cerebral en estadios tempranos de la AD.

Palabras clave: conectividad cerebral, microestructura de sustancia blanca, enfermedad de Alzheimer, imágenes de difusión por resonancia magnética (dMRI), imágenes funcionales por resonancia magnética (fMRI).

Abstract

Characterization of the transition between healthy states using spatial and temporal correlations of the cerebral functional MRI (fMRI) and diffusion MRI (dMRI) signals

Characterizing the function and structure of the human brain is one of Mankind's most interesting challenges. Understanding its states and alterations present a number of obstacles, some of which are being already overcome. The advances in scientific and technological matters of the 20th century allowed a promising approach in this field, being doubtless the nuclear magnetic resonance imaging (MRI) technique the most promising for the study of the brain, constituting a clear example of the scope from Physics to other disciplines, such as Medicine. These types of methods play a key role in interdisciplinary studies since they constantly push the limits of science and technology.

The main objective of this Thesis is implementing diffusion MRI (dMRI) and functional MRI (fMRI) techniques to assess anomalies present in the microstructure of white matter fiber nerves, and structural and functional connectivity, in persons who are at risk of developing late-onset Alzheimer's Disease (AD). With this purpose, we have expanded known metrics of fMRI and dMRI data with the aim of quantifying predictors of AD.

To achieve this, we studied a sample of middle-aged asymptomatic offspring of patients diagnosed with late-onset AD with diverse methodologies. We explored white matter architecture of pathways which connect brain regions that are firstly affected by AD, by processing dMRI data. We also obtained and compared functional and structural connectivity observations between the group of interest and a similar control group without family history of AD. In addition, we sought associations of structural and functional metrics with cognitive scores and morphologic grey matter measures. Lastly, we defined a coupling metric between structural and functional connectivity.

The implemented techniques to study the white matter microstructure revealed a subtle alteration in the group of offspring of late-onset AD compared with the control group. This deterioration is presented in posterior corpus callosum and right fornix. Surprisingly, this abnormal white matter area involves connections between grey matter

regions that are affected by AD in its initial stages. We found decreased functional connectivity from the entorhinal cortex in the experimental group compared with healthy persons without a family history of AD. However, we did not find any significant difference in the functional connectivity from anterodorsal thalamic nuclei, as described in neuropathological reports, nor in regards to global structural connectivity. Finally, we developed a metric which describes the coupling between connectivities in three approaches: per group, per region of interest, and per connection. In the latter case, we found not only pairs of brain regions with statistically significant coupling, but also connections that are significant only in the control group, which suggests a potential deficit in the middle-aged offspring of AD patients.

If replicated, the present observations of functional and structural brain connectivity changes in cognitively normal persons with family history of AD may bear important implications for the definition, early diagnosis in early stages of the disease.

Keywords: Brain connectivity, white matter microstructure, Alzheimer's Disease, diffusion MRI (dMRI), functional MRI (fMRI).

Agradecimientos

Cuando escribo estas líneas se acerca el final del doctorado y es inevitable pensar en todes les que, de alguna u otra manera, contribuyeron a mi desarrollo personal y profesional durante estos años. Aquí, les quiero mencionar y agradecer.

En primer lugar le quiero agradecer a mis directores, les Dres. Mirta Villarreal y Salvador Guinjoan. Mirta, gracias por tu tiempo y dedicación, y por las incontables charlas orientadoras. Salvador, gracias por tu aporte invaluable desde la psiquiatría, y por no dejar que me pierda en la abstracción de las redes que estaba estudiando.

A les jurados, por aceptar ser parte de este trabajo en una instancia crítica: Dres. Pablo Balenzuela, Analía Zwick, Daniel Fraiman, Luciana Bruno y Federico Biafore.

A la Fundación Fleni, su Departamento de Investigación y Docencia y al Servicio de Psiquiatría todo, por darme un espacio propicio para la investigación y formación profesional. Al CONICET y al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, por el soporte financiero de esta tesis y por los subsidios otorgados al grupo de investigación que integro. A la Universidad de Buenos Aires como también al Departamento de Física, por la excelencia académica. La educación pública y de calidad es sin dudas el camino para construir una sociedad más justa e inclusiva. A Exactas y a quienes la integran, por su dedicación y pasión por la ciencia y la docencia, pero sobre todo por llevar en alto banderas de luchas sociales actuales. Estoy orgullosa de ser parte de esa comunidad.

A Cristina Fernández de Kirchner, gracias por poner la ciencia y la tecnología en la agenda política y acercarla a la sociedad. Aún queda mucho por reconstruir.

Con mucho cariño, quiero agradecer a todes mis compañeres de grupo por las discusiones académicas, y también por los momentos compartidos en la oficina y fuera de ella. A Hernán por compartir esta experiencia juntas. A Gaby por acompañarme en los primeros pasos en el mundo de las imágenes de difusión. Y en especial a Barby y Caro por el apoyo que supimos darnos en este tiempo de virtualidad y finalización de tesis.

A mis amigas por la confianza de siempre: Pau, Eva, Flor y Juli. A Jaz porque además de amigas nos sentimos compañeras. A mis amigos físicos Dani, Facu, Alan,

Juancho, Esteban y Euge, por las meriendas y charlas. Compartir todo este camino con ustedes es hermoso.

A Elisa, Javier y Maia, por darme la bienvenida a su familia y hacerme sentir tan querida. Y sobre todo, por el apoyo incondicional que nos dan en cada proyecto que emprendemos con Iván.

A mi mamá y mi hermana, por poner el hombro, por seguir adelante siempre a pesar de las adversidades y por la alegría compartida frente a los pequeños triunfos. A mi sobrina, por el amor y los juegos sin límites. También le dedico esta Tesis a ella. A mi padre, que siempre está presente.

Y siempre gracias a Iván, mi compañero de vida, de aventuras y proyectos. Sin dudas el suyo fue el mayor aporte a este trabajo, gracias por la inspiración y por darme la seguridad que a veces pierdo. Tenemos el mundo por delante y allá vamos.

No hay éxitos ni logros individuales cuando se tiene una red de contención, amor y apoyo así de importante. Gracias a todes ustedes.

*A mi compañero, Iván.
A mi sobrina, Lourdes.*

Trabajos científicos

Aquí presento los trabajos científicos de mi autoría publicados y en preparación obtenidos a partir del trabajo de esta Tesis así como también las colaboraciones con otras tesis.

Relacionados con el trabajo de Tesis

Coupling of structural and functional connectivity in middle aged offspring of patients with late-onset Alzheimer's disease — **Sanchez, S.M.**, Duarte-Abritta, B., Abulafia, C., Bocaccio, H., Guinjoan., S.M. & Villarreal, M.F. — En preparación.

White matter fiber density abnormalities in cognitively normal adults at risk for late-onset Alzheimer's disease — **Sanchez, S.M.**, Duarte-Abritta, B., Abulafia, C., De Pino, G., Bocaccio, H., Castro, M.N., Sevlever, G., Fonzo, G.A., Nemeroff, C.B., Gustafson, D.R., Guinjoan., S.M. & Villarreal, M.F. (2020) — *Journal of Psychiatric Research*, 122, 79-87. — DOI: [10.1016/j.jpsychires.2019.12.019](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.12.019)

Failure to Recover from Proactive Semantic Interference and Abnormal Limbic Connectivity in Asymptomatic, Middle-Aged Offspring of Patients with Late-Onset Alzheimer's Disease — **Sanchez, S.M.**, Abulafia, C., Duarte-Abritta, B., Ladrón de Guevara, M.S., Castro, M.N., Drucaroff, L., Sevlever, G., Nemeroff, C.B., Vigo, D.E., Loewenstein, D.A., Villarreal, M.F. & Guinjoan, S.M. (2017) — *Journal of Alzheimer's Disease*, 60, 1183–1193 — DOI: [10.3233/JAD-170491](https://doi.org/10.3233/JAD-170491)

No relacionados con el trabajo de Tesis

White Matter Structure Predicts Performance and Training Success in Complex Language Task — **Sanchez, S.M.**, Schmidt, H., Gallardo, G., Anwander, A., Brauer, J., Friederici, A.D. & Knösche, T.R. — En preparación.

Amyloid and anatomical correlates of executive functioning in middle-aged offspring of patients with late-onset Alzheimer's Disease. — Duarte-Abritta, B., **Sanchez, S.M.**, Abulafia, C., Gustafson, D.R., Vázquez, S., Sevlever, G., Castro, M.N., Fiorentini, L., Villarreal, M.F. & Guinjoan, S.M. — Journal Psychiatry Research: Neuroimaging — En prensa.

Network Under-Connectivity related to Psychological Stress in Schizophrenia. — Castro, M.N.; Bocaccio, H.; De Pino, G.; **Sanchez, S.M.**; Wainsztein, A.E.; Drucaroff, L.; Costanzo, E.Y.; Crossley, N.C.; Villarreal, M.F. & Guinjoan, S.M. — Journal Schizophrenia Research — En revisión.

Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease — Del Cerro, I., Villarreal, M.F., Abulafia, C., Duarte-Abritta, B., **Sanchez, S.M.**, Castro, M.N., Bocaccio, H., Ferrer, I., Menchon, J.M., Sevlever, G., Nemeroff, C.B., Soriano-Mas, C. & Guinjoan, S.M. (2020) — Journal of Psychiatric Research, 123, 81-88. — DOI: [10.1016/j.jpsychires.2020.01.018](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.01.018)

The avalanche-like behaviour of large-scale haemodynamic activity from wakefulness to deep sleep — Bocaccio, H., Pallavicini, C., Castro, M.N., **Sanchez, S.M.**, De Pino, G., Laufs, H., Villarreal, M.F. & Tagliazucchi, E. (2019) — Journal of the Royal Society Interface, 16. — DOI: [10.1098/rsif.2019.0262](https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0262)

Cortical thickness, brain metabolic activity, and in vivo amyloid deposition in asymptomatic, middle-aged offspring of patients with late-onset Alzheimer's disease — Duarte-Abritta, B., Villarreal, M.F., Abulafia, C., Loewenstein, D., Cid, R.E.C., Castro, M.N., Surace, E., **Sanchez, S.M.**, Vigo, D.E., Vazquez, S., Nemeroff, C.B., Sevlever, G. & Guinjoan, S.M. (2018) — Journal of Psychiatric Research, 107, 11-18. — DOI: [10.1016/j.jpsychires.2018.10.008](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.10.008)

Brain Structural and Amyloid Correlates of Recovery From Semantic Interference in Cognitively Normal Individuals With or Without Family History of Late-Onset Alzheimer's Disease — Abulafia, C., Loewenstein, D., Curiel-Cid, R., Duarte-Abritta, B., **Sanchez, S.M.**, Vigo, D.E., Castro, M.N., Drucaroff, L.J., Vazquez, S., Sevlever, G., Nemeroff, C.B., Guinjoan, S.M. & Villarreal, M.F. (2018) — The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences, appi-neuropsych. — DOI: [10.1176/appi.neuropsych.17120355](https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.17120355)

Índice general

Resumen	I
Abstract	III
Agradecimientos	V
Trabajos científicos	IX
Índice de figuras	XIV
Índice de tablas	XX
Siglas	XXII
1. Introducción	1
1.1. Contexto y objetivos	1
1.2. Estructura de la Tesis	3
2. Neuroimágenes	4
2.1. Imágenes por resonancia magnética	4
2.2. Imágenes de difusión por resonancia magnética	6
2.2.1. Difusión	6
2.2.2. Difusión en medios con arquitectura definida	7
2.2.3. Difusión en tejidos biológicos	9
2.2.4. Señal y adquisición de dMRI	10
2.2.5. Modelo tensorial de difusión	12
2.2.6. Modelos multitensores de difusión	15
2.2.6.1. Deconvolución esférica restringida	16
2.3. Tractografía	18
2.3.1. Etapas en la ejecución de algoritmos de tractografía	20
2.3.2. Tipos de algoritmos de tractografía	21
2.3.3. Formalismo	22
2.4. Conectividad cerebral	24
2.4.1. Teoría de grafos aplicada a conectividad cerebral	25
2.4.2. Acoplamiento de conectividades	27
3. Bases de neuroanatomía	29

3.1. El cerebro humano	29
3.2. Enfermedad de Alzheimer	31
3.2.1. Variantes clínicas y factores de riesgo	32
3.3. Neuroimágenes en la enfermedad de Alzheimer	33
3.3.1. Diagnóstico y biomarcadores	33
3.3.2. Hallazgos en pacientes y en individuos cognitivamente normales con antecedente familiar de AD	35
4. Métodos y procesamiento de imágenes	36
4.1. Diseño experimental y participantes	37
4.2. Parámetros de adquisición de MRI	39
4.3. Procesamiento de imágenes anatómicas T1	39
4.4. Procesamiento de dMRI	41
4.4.1. Preprocesamiento	41
4.4.2. Función respuesta y distribución de orientaciones de fibras	43
4.4.3. Tractografía probabilística	43
4.4.4. Conectividad estructural	44
4.4.5. Microestructura de sustancia blanca	46
4.4.6. Análisis basado en fíxeles	47
4.5. Procesamiento de fMRI	49
4.5.1. Principios básicos de fMRI	49
4.5.2. Preprocesamiento	50
4.5.3. Filtros de frecuencia	51
4.5.4. Conectividad funcional	53
4.6. Acoplamiento de conectividades cerebrales	54
4.7. Comparaciones estadísticas	56
4.8. Más asociaciones: medidas cognitivas y métricas de GM	57
4.8.1. Evaluación cognitiva	58
4.8.2. Métricas corticales y subcorticales de imágenes T1	58
4.8.3. Métricas derivadas de imágenes PET	59
5. Resultados	60
5.1. Imágenes intermedias del procesamiento de dMRI	60
5.2. Conectividad estructural y teoría de grafos	62
5.3. Microestructura de sustancia blanca	65
5.3.1. Resultados demográficos	65
5.3.2. Resultados principales	65
5.3.3. Asociaciones con otras variables cognitivas y morfológicas de GM	68
5.4. Imágenes intermedias del procesamiento de fMRI	71
5.5. Conectividad funcional en estado de reposo	72
5.5.1. Resultados demográficos	72
5.5.2. Resultados principales	73
5.5.3. Asociaciones con variables de la evaluación LASSI-L	75
5.6. Acoplamiento de conectividades	77
5.6.1. Resultados demográficos	77
5.6.2. Resultados principales	77

6. Discusión y conclusiones	82
6.1. Discusión	82
6.1.1. Sobre la conectividad estructural	82
6.1.2. Sobre la microestructura de sustancia blanca	83
6.1.3. Sobre los mapas de conectividad funcional	85
6.1.4. Sobre el acoplamiento de las conectividades	87
6.2. Limitaciones y sus posibles soluciones	88
6.3. Conclusiones	89
A. Material suplementario de métodos y procesamiento de imágenes	91
A.1. Análisis basado en fíxeles	91
A.2. Evaluación cognitiva de interferencia semántica y aprendizaje LASSI-L	93
A.3. Adquisición de imágenes de PET	93
A.3.1. Síntesis del 18F-FDG	93
A.3.2. Síntesis del 11C-PiB	94
B. Parcelaciones de sustancia gris utilizadas	95
B.1. Atlas Desikan-Killiany	95
B.2. Atlas AAL	96
B.3. Atlas Morel del Tálamo	98
Bibliografía	100

Índice de figuras

1.1. Estimación del número de personas (en millones) que padecerán demencia en las próximas décadas, clasificados según los ingresos de sus países. Gráfico reportado por la Asociación Internacional de Alzheimer.	2
2.1. Imágenes de resonancia magnética de contraste T_1 de un vegetal y una fruta. Debido a los tiempos de decaimiento característicos de cada sustancia que los componen se observa en detalle el interior de los mismos.	5
2.2. Figura adaptada del artículo [1]. Se esquematiza la difusión restringida (A) y la obstaculizada (B). El caso C es la combinación de los dos anteriores, en el cual la molécula puede salir del compartimento inicial pero su trayectoria continúa siendo entorpecida por los obstáculos presentes.	8
2.3. Superficies de probabilidad de p sujetas a la arquitectura presente generando: (izquierda) difusión isotrópica en medio libre, (medio) difusión isotrópica restringida, (derecha) difusión anisotrópica en un medio restringido y con obstáculos.	8
2.4. (Izquierda) Esquema del cerebro humano en la vista coronal, se señalan sus tejidos constituyentes. (Derecha) Esquema de la célula neuronal con sus diversos componentes.	9
2.5. Esquema de fibras nerviosas en la dirección principal del elipsoide definido por movimientos aleatorios en un medio anisotrópico y restringido.	10
2.6. Esquema ilustrativo de la secuencia PGSE: a una secuencia SE (RF, superior) se le agregan gradientes de difusión (G, medio), los cuales generan una atenuación en la señal final recolectada (S, inferior).	11
2.7. Relación entre la atenuación de la señal S y el factor b para (izquierda) un medio libre donde la pendiente resulta ser el coeficiente de difusividad D y el mismo no depende del b utilizado; (derecha) medio restringido donde el coeficiente de difusividad aparente (ADC) medido sí depende del factor b utilizado.	12
2.8. Esquema de los seis elementos del coeficiente ADC y cómo cambia la imagen reconstruida según la dirección del gradiente aplicado. Si el sistema de referencia de la difusión del cerebro observado fuese el mismo que el del resonador magnético, entonces sólo se tendrían las tres componentes de la diagonal. Los elementos fuera de la diagonal representan la covarianza entre cada par de ejes.	13
2.9. A la izquierda se observa una vista coronal de una imagen de MRI de cerebro sin gradientes aplicados ($b_0 = 0$), mientras que a la derecha se observan los elipsoides de difusión en los vóxeles que correspondan a WM, mientras que los vóxeles que corresponden a GM o CSF tendrán forma esférica debido a la difusión isotrópica.	14
2.10. Contrastes de la difusividad media (izquierda) y fracción de anisotropía (derecha) en la vista coronal de un cerebro.	15

2.11. Posibles casos de fibras cruzadas: (i) y (ii) esquematizan una única población de fibras cuya orientación varía en el espacio definido por el vóxel, mientras que (iii) y (iv) presentan dos poblaciones de fibras en un mismo vóxel con distintas direcciones principales.	15
2.12. Superior: elipsoides de difusión a partir del modelo DTI. Inferior: lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos de la técnica CSD. Ambos modelos se presentan sobre un mapa de FA en colores cálidos (amarillo corresponde a FA cerca a 1, rojo oscuro corresponde a FA cercana a 0) de una porción de cerebro en su vista coronal. Los colores de cada modelo indican la dirección de fibras, siendo rojo izquierda-derecha, verde anterior-posterior y azul superior-inferior.	18
2.13. Figura tomada del artículo de Mori y cols. [2]. Se esquematiza la reconstrucción de una haz de fibras (flechas curvas) utilizando las orientaciones locales de fibras.	19
2.14. Figura tomada del artículo de Jeurissen y cols. [3]. Se muestran dos tractogramas obtenidos a partir de información de orientación de fibras local modelada mediante DTI (izquierdo) y CSD (derecho).	20
2.15. En el panel izquierdo se muestra un tractograma obtenido a partir de un algoritmo determinístico mientras que en el derecho el resultado de un algoritmo probabilístico. En ambos casos se utilizó la misma región semilla y la ODF de fibras proveniente de CSD.	22
2.16. Tractograma de todo el cerebro en sus tres vistas (axial, sagital y coronal) obtenido a partir del algoritmo probabilístico ifod2. Los streamlines respetan la convención de colores según su dirección.	22
2.17. Figura adaptada del artículo de revisión de Bullmore y Sporns [4]. Se muestra cómo se pueden obtener redes que describan tanto la estructura como la función del cerebro mediante distintos tipos de adquisición.	25
2.18. Figura tomada del artículo de Watts y Strogatz [5]. Esquematiza el comportamiento de las redes a medida que aumenta su aleatoriedad. Las redes de mundos pequeños tienen un comportamiento intermedio entre redes regulares y aleatorias.	27
3.1. Esquema del sistema nervioso: (izquierda) componentes del encéfalo (central): cerebro, cerebelo y tronco encefálico; (derecha) médula espinal (central) y ramificaciones nerviosas (periférico).	30
3.2. Esquema de las capas que recubren y protegen el encéfalo.	30
3.3. Panel izquierdo: se señala la fisura longitudinal (superior) y el cuerpo calloso en su vista sagital (inferior). Panel derecho: lóbulos en los que se divide cada hemisferio del cerebro.	31
3.4. Izquierda: comparación entre un cerebro sano y uno atrofiado. Derecha: esquema sobre las placas extracelulares $A\beta$ y los ovillos intracelulares de la proteína τ . Estas características patológicas afectan tanto a GM como a WM.	32
4.1. Conjunto de imágenes planas (cortes) que juntas reconstruyen un cerebro en 3 dimensiones (volumen).	37
4.2. Segmentación en tejidos biológicos (izquierda) y parcelación según el atlas Desikan-Killiany (derecha). Ambas imágenes se obtienen a partir de la una imagen anatómica de contraste T1.	40
4.3. Etapas del procesamiento de las imágenes de difusión una vez adquiridas (panel A) hasta la obtención de las métricas de microestructura de WM (panel F) y los conectomas estructurales (panel E), pasando por el preprocesado (panel B), la obtención de la orientación de fibras (panel C) y la tractografía probabilística (panel D).	41

4.4.	<i>Figura adaptada del artículo de Raffelt y cols. [6]. Se esquematizan las tres métricas que describen posibles cambios en la microestructura de WM, desarrolladas dentro del análisis basado en fíxeles (FBA).</i>	47
4.5.	<i>Panel izquierdo: lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos (SH) correspondientes a la imagen FOD plantilla coloreados según su orientación. Panel derecho: fíxeles obtenidos y seleccionados a partir de los lóbulos, coloreados según la amplitud del lóbulo originante (mayor amplitud del lóbulo, mayor intensidad del fíxel).</i>	48
4.6.	<i>Etapas del procesamiento de las imágenes de funcionales una vez adquiridas (panel A) hasta la obtención de la conectividad mediante métodos de nodos o semilla (panel D), pasando por el preprocesado (panel B) y la aplicación de los filtros necesarios (panel C).</i>	52
4.7.	<i>Acoplamiento por sujeto. Cada sujeto control está notado como c_i y sujetos del grupo O-LOAD h_i. La cantidad de sujetos controles es n_1, la de sujetos del grupo O-LOAD es n_2, i es la cantidad total de pares de conexión. Se obtuvo un vector por grupo de tantos elementos como sujetos en el grupo.</i>	55
4.8.	<i>Acoplamiento por región de GM. Para cada sujeto se utilizaron valores colapsados de SC (suma de streamlines por región) y FC (promedio de z de Fisher por región). Dentro de cada grupo, se correlacionaron todos los valores colapsados de cada región de SC con los de FC.</i>	56
4.9.	<i>Acoplamiento por par de conexión. Se toman los valores de SC y FC para cada par de regiones de todos los sujetos de cada grupo y se los correlaciona.</i>	56
5.1.	<i>Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) extracción de ruido y (derecha) corrección de las inhomogeneidades del campo aplicado.</i>	61
5.2.	<i>Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) función respuesta por tejido: CSF en rojo, WM en azul, GM en verde. (Derecha) Distribución de orientación de fibras por vóxel: izquierda \leftrightarrow derecha en rojo, anterior \leftrightarrow posterior en verde, y superior \leftrightarrow inferior en azul.</i>	61
5.3.	<i>Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) segmentación de tejidos cerebrales. (Derecha) Tractograma final.</i>	61
5.4.	<i>Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. Matriz de conectividad estructural y su representación gráfica mediante un conectoma.</i>	62
5.5.	<i>Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. Mapas de fracción de anisotropía (izquierda) y de difusividad media (derecha).</i>	62
5.6.	<i>Comportamiento de métricas de redes de mundo pequeño según el umbral aplicado en los conectomas estructurales promedios por grupo.</i>	63
5.7.	<i>Conectomas estructurales promedio por grupo: sin umbralizar y con umbrales de 80, 300 y 600 streamlines. En el panel superior se ubican los conectomas del grupo control y en el inferior los del grupo O-LOAD.</i>	64
5.8.	<i>Se muestra el tracto de WM que presenta menor densidad de fibras en el grupo O-LOAD respecto al grupo CS. En el panel derecho se presenta el mismo coloreado según la orientación de streamlines presentes. En ambos casos el tracto se superpone sobre una imagen estructural plantilla obtenida a partir de la muestra total.</i>	66
5.9.	<i>Se muestra el tracto resultante del análisis FBA coloreado por el porcentaje de reducción de FD en el grupo O-LOAD en sus tres vistas. Dicha reducción compone un rango del 4 % al 50 % respecto al grupo CS.</i>	66

5.10. Valor medio de las métricas FA (izquierda) y MD (derecha) calculadas en el tracto de interés definido en la Fig. 5.8 para cada sujeto. El error graficado es el desvío estándar. En ambas métricas se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. (* $p < 0.05$).	67
5.11. Distribución de los valores de las métricas de WM. Izquierda: relación entre FA y FD; derecha: relación entre MD y FD. Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$) en algún grupo, se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.	67
5.12. Conectoma estructural construido a partir de las conexiones involucradas en el tracto de interés de la Fig. 5.8. Para simplificar la imagen, se presenta un único streamline por conexión.	68
5.13. Cada gráfico muestra la distribución de PET-PiB (panel A), volumetría (panel B) o espesor cortical (panel C) para regiones de GM versus FD del tracto de interés en el grupo CS (círculos azules vacíos) y el grupo O-LOAD (círculos vacíos naranjas). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.	69
5.14. Cada gráfico muestra la distribución de PET-PiB, volumetría o espesor cortical para regiones de GM versus MD (panel A) y FA (panel B) del tracto de interés en el grupo CS (círculos azules vacíos) y el grupo O-LOAD (círculos vacíos naranjas). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.	70
5.15. Cada gráfico muestra la relación entre los valores de la fluencia semántica con las métricas de WM del tracto de interés: FA (izquierda), MD (medio), y FD (derecha). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.	70
5.16. Regresores de movimiento: (superior) uno por cada dirección de traslación (x , y , z); (inferior) ángulo de inclinación (θ), ángulo de alabeo (ϕ), y ángulo de deriva (ψ).	71
5.17. (Izquierda) Imagen normalizada utilizando una imagen de referencia. (Derecha) Imagen suavizada mediante un kernel gaussiano.	71
5.18. (Izquierda) Ejemplo de mapa de conectividad funcional obtenido a partir de método semilla, utilizando la región tálamo antero-dorsal izquierdo. (Derecha) Ejemplo de matriz de conectividad funcional a partir de método nodos, empleando la parcelación del atlas de Desikan-Killiany.	72
5.19. Mapas de conectividad funcional obtenidos con el método semilla a partir de corteza entorrinal izquierda (panel superior) y derecha (panel inferior) para ambos grupos ($p < 2 \times 10^{-12}$). Los planos axiales se muestran en su vista superior ($D =$ derecha). Las coordenadas son en espacio MNI.	74
5.20. Diferencias en los patrones de FC entre grupos en la corteza entorrinal (EC) izquierda (panel superior) y derecha (panel inferior) ($p < 0.001$). Las coordenadas son en espacio MNI. $D =$ derecha, $I =$ izquierda, $A =$ anterior, $P =$ posterior.	74
5.21. Mapas de conectividad funcional obtenidos con el método semilla a partir del tálamo antero-dorsal izquierdo (panel superior) y derecho (panel inferior) para ambos grupos ($p < 3 \times 10^{-12}$). Los planos axiales se muestran en su vista superior ($D =$ derecha). Las coordenadas son en espacio MNI.	75

5.22. Vista coronal antero-posterior con las asociaciones entre la FC de pares de interacción de regiones de interés con tareas de la prueba LASSI-L en el grupo CS (Panel A) y en el grupo O-LOAD (Panel B). Todas las correlaciones son negativas (enlaces azules), y el espesor de los enlaces indican su magnitud. Los nodos verdes pertenecen a regiones del atlas AAL. La EC pertenece al atlas Desikan-Killiany y el TAD al Morel Thalamus Atlas.	76
5.23. Izquierda: gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC calculados en la escala por sujeto. Derecha: SC vs. FC para un sujeto control (celeste) y un sujeto del grupo O-LOAD (naranja).	78
5.24. Izquierda: gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC obtenidos en la escala por región para cada grupo. Derecha: valores de la SC vs. FC del cúneo izquierdo (L.CU) para ambos grupos.	79
5.25. Gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC obtenidos en la escala por conexión para cada grupo. Ambos grupos presentan distribuciones similares y no se hallan diferencias estadísticas entre ellos.	79
5.26. Pares de conexión cuyos valores de acoplamiento SC-FC resultaron significativos en el grupo CS (panel superior) y en el grupo O-LOAD (panel inferior). El color de los enlaces depende de la magnitud del valor de acoplamiento.	81
A.1. Figura tomada del artículo [6]. Se presenta un diagrama detallado de todas las etapas de análisis basado en fíxeles aplicado en un grupo control y otro de pacientes. FOD = distribución de orientación de fibras; FD = densidad de fibras; FC = sección transversal de fibras; FDC = sección transversal y densidad de fibras.	92

Índice de tablas

5.1.	<i>Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de conectividad estructural. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2, mientras que para las variables numéricas se utilizó t-test.</i>	63
5.2.	<i>Métricas de redes de mundo pequeño calculadas sobre un conectoma promedio por grupo y métricas topológicas generales calculadas sobre los conectomas de cada individuo.</i>	64
5.3.	<i>Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de conectividad funcional obtenida con el método semilla. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2, mientras que para las variables numéricas se utilizó t-test. Rdo = recuerdo; Int = intrusiones. Los valores p que superaron la corrección por comparaciones múltiples de FDR se marcan con (*).</i>	73
5.4.	<i>Pares de conexión cuya conectividad funcional correlacionó con las intrusiones del recuerdo facilitado 2B de la prueba LASSI-L en el grupo O-LOAD. Los valores p no están corregidos. Además estas conexiones se grafican en el panel B de la Fig. 5.22.</i>	77
5.5.	<i>Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de acoplamiento SC-FC. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2, mientras que para las variables numéricas se utilizó t-test.</i>	77
5.6.	<i>Pares de conexión cuyo acoplamiento SC-FC resultó significativo en cada grupo. Estas conexiones se grafican en la Fig. 5.26. En el Apéndice B se presenta el nombre completo y las etiquetas de cada región.</i>	80
B.1.	<i>Listado de regiones corticales y subcorticales seleccionadas del atlas Desikan-Killiany.</i>	96
B.2.	<i>Regiones corticales y subcorticales del Atlas AAL.</i>	98
B.3.	<i>Parcelación del Tálamo del Atlas Morel. En esta Tesis sólo se utilizó la parcela antero-dorsal.</i>	99

Siglas

- AAL** *Automatic Anatomical Labeling* - Etiquetado anatómico automatizado
- ACT** *Anatomically-Constrained Tractography* - Tractografía anatómicamente restringida
- AD** *Alzheimer's Disease* - Enfermedad de Alzheimer
- ADC** *Apparent Diffusion Coefficient* - Coeficiente de difusión aparente
- BDI II** *Beck Depression Inventory, 2^o Version* - Inventario de depresión de Beck, 2^o Versión
- BOLD** *Blood-Oxygenation-Level Dependent* - Dependiente del nivel de oxigenación de la sangre
- CS** *Control Subjects* - Sujetos controles
- CSD** *Constrained Spherical Deconvolution* - Deconvolución esférica restringida
- CSF** *Cerebrospinal Fluid* - Líquido cefalorraquídeo
- DMN** *Default Mode Network* - Red neuronal por defecto
- dMRI** *diffusion Magnetic Resonance Imaging* - Imágenes de difusión por resonancia magnética
- DSM-5** *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5^o Edition* - Manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, 5^o edición
- DTI** *Diffusion Tensor Imaging* - Imágenes por tensor de difusión
- DWI** *Diffusion Weighted Imaging* - Imágenes pesadas en difusión
- EC** *Entorhinal Cortex* - Corteza entorrinal
- FA** *Fractional Anisotropy* - Fracción de anisotropía
- FBA** *Fixel Based Analysis* - Análisis basado en *fixeles*

- FC** *Fibre-bundle cross-section* - Sección transversal de un haz de fibras
- FD** *Fiber Density* - Densidad de fibras
- FDC** *Fibre density and cross-section* - Densidad de fibras y sección transversal
- FDR-BH** *False Discovery Rate Benjamini-Hochberg* - Tasa de falso descubrimiento Benjamini-Hochberg
- fMRI** *Functional Magnetic Resonance Imaging* - Imágenes funcionales por resonancia magnética
- FOD** *Fibre Orientation Distributions* - Distribución de orientaciones de fibras
- frPSI** *Failure to Recover from PSI* - Fracaso para recuperarse de PSI
- GM** *Gray Matter* - Sustancia gris
- HPLC** *High Performance Liquid Chromatographic* - Cromatografía líquida de alto rendimiento
- LASSI-L** *Loewenstein-Acevedo Scales for Semantic Interference and Learning* - Escala de interferencia semántica y aprendizaje de Loewenstein-Acevedo
- LOAD** *Late Onset AD* - Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
- MD** *Mean Diffusivity* - Difusividad media
- MMSE** *Mini-Mental State Examination* - Mini examen del estado mental
- MR** *Magnetic Resonance* - Resonancia magnética
- MRI** *Magnetic Resonance Imaging* - Imágenes por resonancia magnética
- O-LOAD** *Offspring of LOAD* - Hijos de personas con la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
- ODF** *Orientation Density Function* - Función densidad de orientaciones
- PDF** *Probability Density Function* - Función densidad de probabilidad
- PET** *Positron Emission Tomography* - Tomografía por emisión de positrones
- PGSE** *Pulsed Gradient Spin-Echo* - Espín-eco de gradiente pulsado
- PSI** *Proactive Semantic Interference* - Interferencia semántica proactiva
- RF** *Radiofrequency* - Radiofrecuencia
- ROI** *Region of Interest* - Región de interés

- RSI** *Retroactive Semantic Interference* - Interferencia semántica retroactiva
- SC** *Structural Connectivity* - Conectividad estructural
- SD** *Spherical Deconvolution* - Deconvolución esférica
- SE** *Spin-Echo* - Espín-eco
- SH** *Spherical Harmonics* - Armónicos esféricos
- SIFT** *Spherical-deconvolution Informed Filtering of Tractograms* - Filtro informado por deconvolución esférica de tractogramas
- TAD** *Anterodorsal Thalamus* - Tálamo anterodorsal
- TBSS** *Tract-based spatial statistic* - Estadística espacial basada en tractos
- WM** *White Matter* - Sustancia blanca

Capítulo 1

Introducción

1.1. Contexto y objetivos

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un gravísimo problema de salud pública que constituye hasta un 70 % de casos de demencia en todo el mundo. Según el último reporte mundial de la Asociación Internacional de Alzheimer, en 2020 había más de 50 millones de personas padeciendo algún tipo de demencia y alrededor del 60 % pertenecía a países de ingresos bajos y medios. Además, en países centrales la prevalencia de demencia en personas de más de 65 años de edad es de aproximadamente un 8 %, con un aumento con la edad (hasta mediados de la 10^o década de vida) que hace que la incidencia de problemas cognitivos se duplique cada 5 a 10 años y así alcance a un 30 % en las personas de más de 85 años. En esa línea, para el año 2050 se estima que el número de pacientes con demencia ascenderá a 152 millones y el 71 % se centrará en países de ingresos bajos y medios (Fig.1.1). Estas estadísticas señalan una necesidad imperiosa de desarrollar mecanismos de detección tempranos que permitan evitar el avance de la enfermedad en personas que se encuentran en riesgo de padecerla.

La presente Tesis se enmarca en un proyecto global, interdisciplinario y transmodal que se basa en la exploración de una muestra de sujetos adultos cognitivamente asintomáticos descendientes de pacientes con la enfermedad de Alzheimer (AD) de inicio tardío. Como se explicará en el Capítulo 3, es debido a estos antecedentes familiares que el grupo de sujetos se encuentra en riesgo de desarrollar la enfermedad. El principal objetivo de este proyecto global, es detectar indicios neurobiológicos de manifestaciones patológicas previas al desarrollo y diagnóstico de AD. Para llevarlo adelante, se propuso realizar un estudio sistemático y controlado de los predictores de AD en hijos de pacientes con esta enfermedad. En este contexto, se han implementado una serie de técnicas no invasivas, que abarcan desde la evaluación del rendimiento neurocognitivo, estudios clínicos, y análisis de la anatomía y funcionamiento del cerebro. La hipótesis central que subyace este proyecto es que la progresión de lesiones características de la AD son

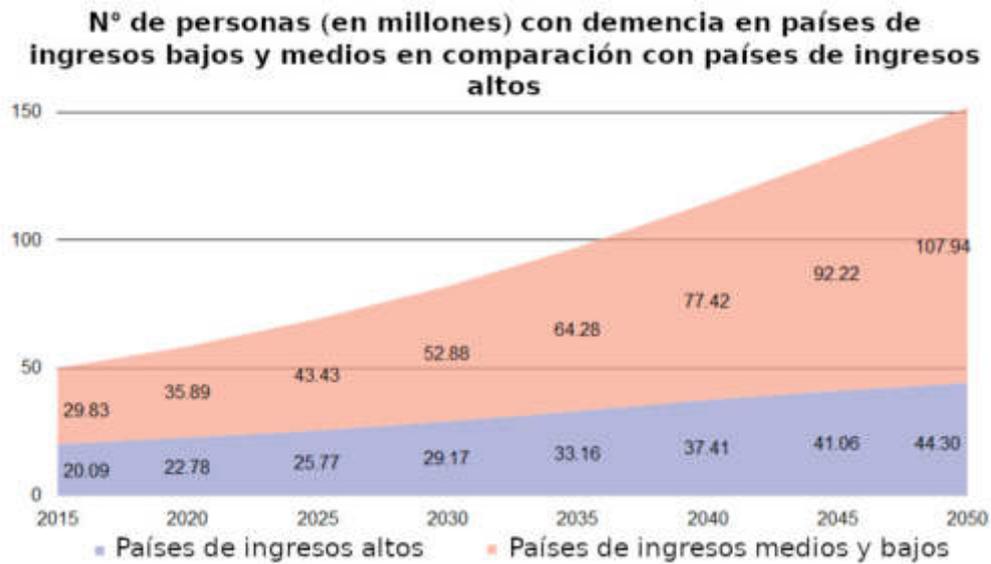


FIGURA 1.1: *Estimación del número de personas (en millones) que padecerán demencia en las próximas décadas, clasificados según los ingresos de sus países. Gráfico reportado por la Asociación Internacional de Alzheimer.*

precedidas por anomalías en el funcionamiento y anatomía del cerebro, que resultan en alteraciones genéticas que predisponen a padecer la AD.

En particular, esta Tesis se ha dedicado a buscar anomalías en la estructura de sustancia blanca y el funcionamiento del cerebro mediante herramientas de neuroimágenes, como son las imágenes de difusión y funcionales de resonancia magnética. La implementación de estas técnicas condujo a la caracterización de la conectividad estructural y funcional del cerebro, aspectos claves para la población objetivo del proyecto global. A su vez, estas herramientas fueron puestas a prueba en un escenario donde su objetivo podría resultar considerablemente más sutil (y por ende más complejo de detectar) que un escenario dado por pacientes con atrofas macroscópicas debido al avance de la enfermedad.

A continuación se detallan los objetivos específicos de la Tesis.

- Cálculo de métricas que describan la microestructura de sustancia blanca y cuantifiquen cambios respecto a un grupo control,
- aplicación de algoritmos probabilísticos de tractografía y generación de *streamlines* con el fin de obtener las matrices de conectividad estructural correspondientes,
- exploración de dichas matrices a través de la teoría de grafos,
- análisis de imágenes funcionales en estado de reposo y obtención de las matrices de conectividad funcional,
- búsqueda y desarrollo de una métrica que describa el acoplamiento,

- establecer asociaciones con variables que describan otros aspectos del cerebro en la misma población de estudio,
- en todos los casos, aplicar pruebas para medir el poder estadístico de los resultados obtenidos.

1.2. Estructura de la Tesis

Esta Tesis está escrita en 6 capítulos:

1. En este capítulo **1** se presentan la motivación del trabajo, su lugar en el proyecto interdisciplinario que lo engloba, y sus objetivos específicos.
2. En el capítulo **2** se introduce el concepto de las imágenes de resonancia magnética haciendo especial énfasis en las imágenes por difusión, sus fundamentos físicos y sus alcances. Además se complementa con las nociones de conectividad cerebral en general y conectividad funcional en particular, y su abordaje mediante teoría de grafos.
3. En el capítulo **3** se introducen los conceptos básicos sobre neuroanatomía y la enfermedad de Alzheimer necesarios para el entendimiento de la Tesis.
4. En el capítulo **4** se presenta y detalla la metodología aplicada sobre los datos de dMRI y fMRI. Además se explica el procedimiento para el acoplamiento de las conectividades funcional y estructural.
5. En el capítulo **5** se reportan los resultados obtenidos a partir de las técnicas aplicadas, incluyendo los que forman parte de publicaciones en revistas científicas por referato como aquellos que aún no han sido publicados.
6. En el capítulo **6** se discuten y analizan todos los resultados expuestos anteriormente, tanto desde un enfoque técnico (con logros y limitaciones) como desde una posible contribución a la literatura de la enfermedad de Alzheimer en estado preclínico. Además se plantean posibles perspectivas de trabajo futuro.

Capítulo 2

Neuroimágenes

2.1. Imágenes por resonancia magnética

Las imágenes por resonancia magnética ([MRI](#)) constituyen una técnica no invasiva utilizada para obtener imágenes seccionadas de la estructura y composición del cuerpo que se desea estudiar, a través del fenómeno físico de la resonancia magnética ([MR](#)) nuclear.

La MRI se basa en la interacción entre los núcleos atómicos y un campo magnético estático y homogéneo $\vec{B}_0 = B_0 \hat{z}$. Como resultado de dicha interacción se tiene la precesión del espín de los núcleos atómicos alrededor del campo \vec{B}_0 con una frecuencia angular definida y conocida como frecuencia de Larmor. De la física cuántica se sabe que, según el desdoblamiento de Zeeman, los espines podrán tomar dos estados con distinta energía, es decir, los espines podrán orientarse en su modo paralelo o anti-paralelo al campo \vec{B}_0 . Como consecuencia se tiene una magnetización neta ($\vec{M}_0 = M_0 \hat{z}$) no nula en la misma dirección al campo magnético aplicado \vec{B}_0 .

Dicha magnetización \vec{M}_0 puede ser perturbada mediante la aplicación de pulsos magnéticos oscilantes en la frecuencia de resonancia (la ya mencionada frecuencia de Larmor) logrando componentes no nulas en su plano transversal. Como consecuencia los espines entran en fase y se tiene una magnetización total macroscópica transversal ($\vec{M}(t)$) con dependencia temporal que puede ser medida por una bobina externa.

Otro fenómeno a tener en cuenta son las dos latencias de decaimiento del sistema de espines posterior a la magnetización transversal. La primera de ellas, es la denominada relajación longitudinal, que se denota T_1 y es debida a la interacción del sistema de espines con su vecindario atómico. Brevemente, una vez perturbada la magnetización neta a su plano transversal, la misma comenzará a perder energía y tenderá a su dirección original paralela al campo \vec{B}_0 . La segunda, es producto de la pérdida de coherencia de las fases de los espines del sistema. Es decir, luego de la excitación, los espines perderán

coherencia gradualmente y quedarán desfasados entre ellos. Dicha latencia, se denomina relajación transversal y se denota T_2 . Cada sustancia (agua, grasa, hueso) tiene sus propios T_1 y T_2 asociados, los cuales se ven reflejados en la imagen final reconstruida facilitando la distinguibilidad de las diferentes estructuras del objeto observado. En la Fig. 2.1 se muestran imágenes de resonancia magnética con contraste T_1 de un vegetal y una fruta pudiéndose observar en detalle el interior de los mismos.

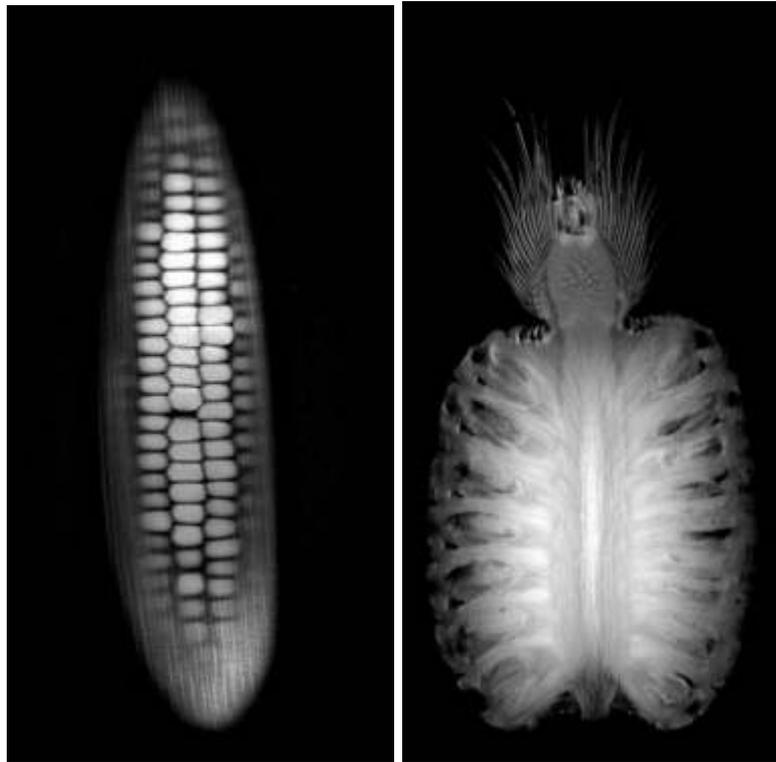


FIGURA 2.1: *Imágenes de resonancia magnética de contraste T_1 de un vegetal y una fruta. Debido a los tiempos de decaimiento característicos de cada sustancia que los componen se observa en detalle el interior de los mismos.*

Los fenómenos físicos introducidos en esta sección describen brevemente los fundamentos de MRI y pueden ser expresados conjuntamente en la ecuación de Bloch 2.1:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 + \frac{1}{T_1} (M_0 + M_z) \hat{z} - \frac{1}{T_2} (M_x \hat{x} + M_y \hat{y}), \quad (2.1)$$

siendo γ la constante giromagnética. El primer término del miembro derecho representa la precesión (a frecuencia de Larmor) de la magnetización total \vec{M} de un sistema de espines alrededor de un campo magnético uniforme \vec{B}_0 . El segundo término se refiere a la magnetización (\vec{M}) gobernado por el tiempo de relajación longitudinal T_1 , mientras que el último término describe el cambio ocurrido en el plano transversal gobernado por el tiempo de decaimiento T_2 . La solución a la ecuación 2.1, así como también una descripción acabada de los conceptos mencionados anteriormente pueden ser encontrados en el trabajo de Brown y cols. [7].

En lo que sigue del capítulo, se presentan y explican los conceptos básicos de la adquisición de MRI analizada y estudiada en esta tesis, así como también los conceptos obtenidos y construidos a partir de la misma.

2.2. Imágenes de difusión por resonancia magnética

Una de las técnicas disponibles dentro de la familia de MRI es la denominada imágenes de difusión por resonancia magnética (**dMRI**), la cual tiene la capacidad de medir los movimientos locales difusivos de las moléculas de agua que componen el cuerpo observado. Como se verá en esta sección, esta técnica tiene un gran alcance dentro de la Neurociencia y la Medicina, ya que hace uso de las ventajas y, de las que podrían parecer, desventajas de las propiedades físicas de los movimientos locales permitiendo reconstruir de modo no invasivo la estructura y geometría subyacentes del objeto de estudio.

2.2.1. Difusión

Físicamente, los **movimientos difusivos** de las moléculas de agua pueden ser entendidos como movimientos aleatorios inducidos por la energía térmica de las moléculas causando colisiones aleatorias entre ellas. Macroscópicamente, este fenómeno se describe a través de la Primera Ley de Fick:

$$J = -D\nabla C, \quad (2.2)$$

donde J es el flujo neto de las moléculas, D es la difusividad (también llamada coeficiente de difusión) y ∇C es el gradiente de concentración de las moléculas. El signo menos indica que las moléculas se desplazan de un lugar de mayor concentración a uno de menor.

Por su parte, en 1905, Albert Einstein introdujo la función densidad de probabilidad (**PDF**) de difusión $p(\vec{r})$, permitiendo cuantificar la fracción de un gran conjunto de partículas que se desplazan en un medio libre durante un tiempo t . Dicha **PDF** resulta ser una distribución Gaussiana:

$$p(\vec{r}) = \frac{N}{\sqrt{(4\pi t D)^3}} e^{-\frac{\|\vec{r}\|^2}{4tD}}, \quad (2.3)$$

donde N es el número de partículas, \vec{r} es el vector desplazamiento y D nuevamente es el coeficiente de difusión de la ecuación 2.2. La superficie de probabilidad de p toma la forma de una esfera centrada en el origen, lo que indica que la difusión es **isotrópica**, es decir existe la misma probabilidad de desplazamiento de las moléculas en cualquier dirección.

De la ecuación 2.3 se desprende la relación entre el desplazamiento cuadrático medio ($\langle \|\vec{r}\|^2 \rangle$) de un ensamble de moléculas y el coeficiente de difusión:

$$\langle \|\vec{r}\|^2 \rangle = 6Dt. \quad (2.4)$$

Las ecuaciones 2.3 y 2.4 se cumplen en el caso de un medio libre, es decir cuando las moléculas de agua se encuentran en un medio sin obstáculos ni barreras. A continuación se presentan otros casos.

2.2.2. Difusión en medios con arquitectura definida

El movimiento difusivo de las moléculas de agua presentes en ciertos fluidos (por ejemplo, tejidos biológicos) puede verse restringido debido a la arquitectura propia del medio, provocando una disminución tanto en la distancia cuadrática media como en el coeficiente de difusión (comparados con sus análogos en un medio libre y a t suficientemente largo) y predominando así los efectos de los obstáculos y la microestructura presentes [8]. Aquí reside la clave del impacto de dMRI: es la única técnica *in vivo* que toma ventaja de dicha restricción para describir las características morfológicas y la organización geométrica en tejidos biológicos.

En la Fig. 2.2 se presenta el esquema de la Figura 1b del artículo de Le Bihan y cols. [1], en la cual se muestra cómo la arquitectura de lo que podrían ser tejidos biológicos modula el movimiento de difusivo. Según tal arquitectura se tienen los siguientes tipos de difusión:

- **difusión restringida:** los movimientos aleatorios de las moléculas son limitados dentro de un compartimento cerrado (Fig. 2.2, caso **A**),
- **difusión obstaculizada:** los movimientos aleatorios de las moléculas son entorpecidos por obstáculos en el medio (Fig. 2.2, caso **B**).

Al calcular la difusividad D en cualquiera de estos casos se observa una disminución respecto del caso en el medio libre, y se genera una dependencia funcional con la forma y el tamaño de los obstáculos limitantes [9]. Debido a esto, el coeficiente D es reemplazado por el coeficiente de difusión aparente (ADC) [8].

Cualquiera sea el escenario de los presentados en la Fig. 2.2, es posible que la difusión sea además isotrópica o bien **anisotrópica**. En el primer caso, la superficie de probabilidad de p es nuevamente una esfera pero con un radio de difusión menor comparada con el caso de medio libre (Fig. 2.3 izquierda) y el valor de ADC no depende del punto en el que se lo calcule. En cambio, el caso anisotrópico presenta direcciones de desplazamiento de las moléculas con distintas probabilidades de ocurrencia siendo

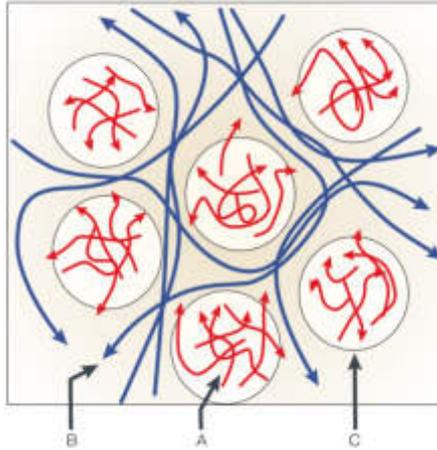


FIGURA 2.2: Figura adaptada del artículo [1]. Se esquematiza la difusión restringida (A) y la obstaculizada (B). El caso C es la combinación de los dos anteriores, en el cual la molécula puede salir del compartimento inicial pero su trayectoria continúa siendo entorpecida por los obstáculos presentes.

la superficie de probabilidad p un elipsoide (Fig. 2.3, derecha). Esto indica que ya no es posible describir el ADC mediante un único escalar y la ecuación 2.3 es modificada como sigue:

$$p(\vec{r}) = \frac{1}{\sqrt{(4\pi t)^3 |\mathbf{D}|}} e^{-\vec{r}^T \frac{\mathbf{D}^{-1}}{4t} \vec{r}}, \quad (2.5)$$

donde \mathbf{D} es el tensor que caracteriza la difusión aparente en un medio no homogéneo con obstáculos para las moléculas de agua y se expresa:

$$\mathbf{D} = \frac{\langle \vec{r} \vec{r}^T \rangle}{6t} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{yx} & D_{zx} \\ D_{xy} & D_{yy} & D_{zy} \\ D_{xz} & D_{yz} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad (2.6)$$

Debido a la simetría del tensor \mathbf{D} , es posible describirlo mediante seis parámetros, tres autovectores y tres autovalores, quienes a su vez definen el elipsoide de la superficie de probabilidad p de 2.5.

Tanto la difusión restringida como la obstaculizada están presentes en tejidos biológicos debido a su arquitectura y composición. El cerebro está compuesto por tres

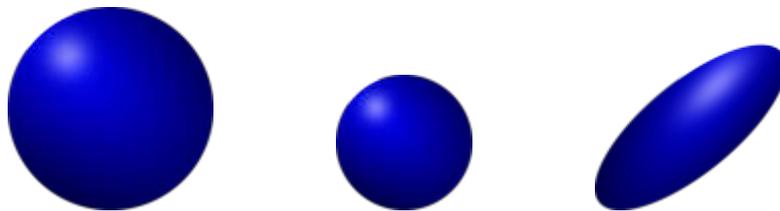


FIGURA 2.3: Superficies de probabilidad de p sujetas a la arquitectura presente generando: (izquierda) difusión isotrópica en medio libre, (medio) difusión isotrópica restringida, (derecha) difusión anisotrópica en un medio restringido y con obstáculos.

tejidos bien diferenciados que impactan en el movimiento difusivo de las moléculas de agua, y se los presenta a continuación.

2.2.3. Difusión en tejidos biológicos

A nivel macroscópico, el cerebro humano está formado por tres tejidos biológicos (Fig. 2.4, panel izquierdo):

- **Sustancia gris (GM):** constituye principalmente la capa más externa del cerebro, está compuesta por los cuerpos de las células neuronales y células de la glia que le proveen sostén y otras funciones de tipo metabólico. Debido a su arquitectura interna, las moléculas de agua que la componen difunden restringida pero isotrópicamente.
- **Sustancia blanca (WM):** es la gran masa del cerebro integrada por las fibras nerviosas mielinizadas (ver panel derecho Fig. 2.4), se encarga primordialmente de transmitir información en forma de señales eléctricas, desde y hacia regiones de la GM. Debido a su microestructura interna, las moléculas de agua difunden anisotrópicamente, siendo los propios axones las barreras que gobiernan el movimiento difusivo.
- **Líquido cefalorraquídeo (CSF):** se ubica mayoritariamente en los ventrículos y alrededor del cerebro brindándole protección mecánica e inmunológica. Aquí las moléculas también difunden de modo isotrópico pero menos restringidamente que en la GM.

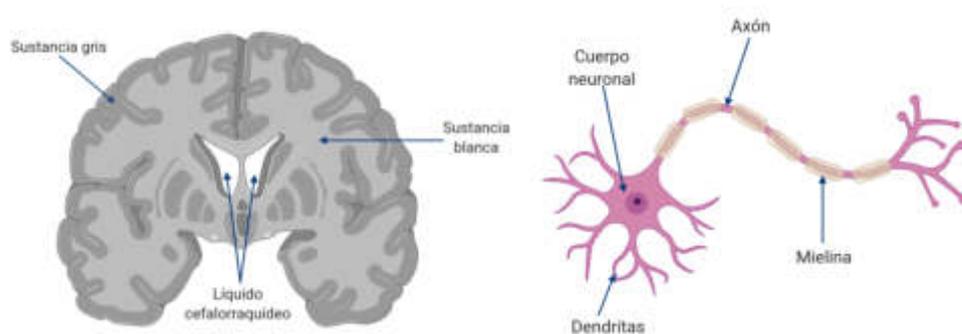


FIGURA 2.4: (Izquierda) Esquema del cerebro humano en la vista coronal, se señalan sus tejidos constituyentes. (Derecha) Esquema de la célula neuronal con sus diversos componentes.

Se dice que la arquitectura de la WM es más organizada que la del resto de los tejidos biológicos debido a las barreras introducidas por los axones mielinizados y la membrana celular. Dichas barreras son las que definen una fuerte dependencia direccional: las moléculas de agua se ven mucho menos obstaculizadas y restringidas a

lo largo de los axones que en la dirección perpendicular a ellos (Fig. 2.5). De este modo, al estudiar las imágenes de dMRI es posible obtener información de la geometría de las fibras nerviosas que componen el cerebro.

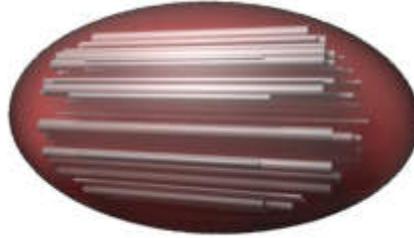


FIGURA 2.5: Esquema de fibras nerviosas en la dirección principal del elipsoide definido por movimientos aleatorios en un medio anisotrópico y restringido.

2.2.4. Señal y adquisición de dMRI

En breves palabras, un resonador magnético está compuesto por un imán superconductor, el cual genera un campo magnético estático; bobinas de radiofrecuencias (RF) operando a la frecuencia de Larmor, que emiten y reciben señal; bobinas de gradiente, las cuales dan información espacial de la señal; y las bobinas de calce, las cuales mantienen la uniformidad del campo magnético aplicado.

La señal recibida por la bobina detectora de RF, que luego será reconstruida para lograr la imagen correspondiente, no sólo depende de las propiedades del objeto de estudio sino también de las características del campo magnético, pulsos y gradientes aplicados (intensidad, tiempo de duración, orden de aplicación, etc.), lo que se denominada secuencia de adquisición. La secuencia implementada para medir propiedades difusivas es, con algunas variaciones, la espín-eco (SE) [10]. La misma consiste en excitar los núcleos atómicos aplicando dos pulsos de RF en distintos planos: el primero perturba la magnetización \vec{M} y el segundo revierte el desfase de los espines con el fin de re-focalizar la señal antes de recolectarla. A esta secuencia SE se le agregan gradientes de difusión lineales [11]. Esta secuencia se denomina espín-eco con gradientes pulsados (PGSE) y se ilustra en la Fig. 2.6.

La siguiente es la expresión matemática que describe la señal que permite estudiar los movimientos difusivos [11]:

$$S = S_0 e^{-bD}, \quad (2.7)$$

donde S es la señal atenuada por los gradientes de difusión y detectada por la bobina, S_0 es la señal sin los gradientes de difusión, D es el coeficiente de difusión ya conocido y b engloba todos los parámetros de adquisición [8]. El factor b es fundamental ya que indica cuán sensible es la adquisición a la difusión del cuerpo de estudio y es el que debe

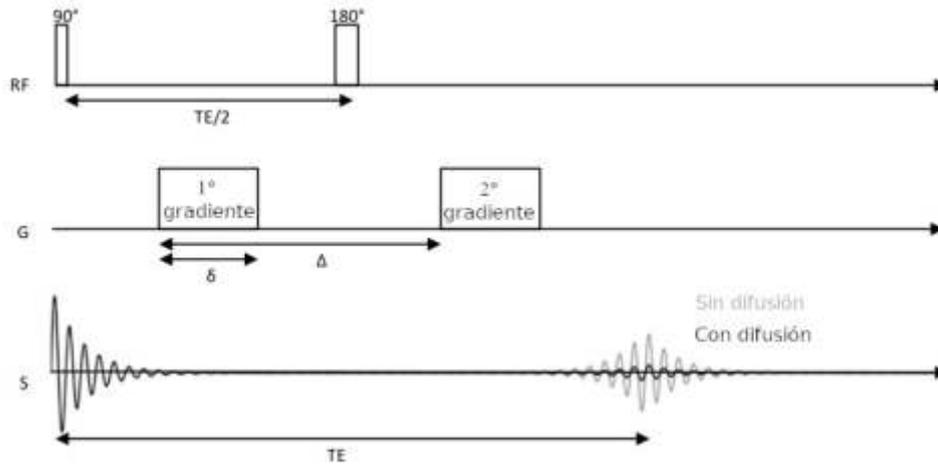


FIGURA 2.6: Esquema ilustrativo de la secuencia PGSE: a una secuencia SE (RF, superior) se le agregan gradientes de difusión (G, medio), los cuales generan una atenuación en la señal final recolectada (S, inferior).

ajustarse para lograr los efectos deseados en la imagen final resultante. Su expresión es:

$$b = \gamma^2 \|\vec{g}\|^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3), \quad (2.8)$$

donde γ es la constante giromagnética de los núcleos de hidrógeno, \vec{g} son los campos gradientes aplicados, δ es la duración de \vec{g} y Δ es el intervalo entre \vec{g} (Fig. 2.6).

Manipulando la expresión 2.7, se obtiene:

$$-\ln(A) = -\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = bD \quad (2.9)$$

El miembro izquierdo de la ecuación 2.9 contiene la información detectada por el resonador magnético, donde A es la atenuación de la señal, mientras que el lado derecho la difusividad del medio y los parámetros de adquisición. Así por ejemplo, un alto valor de b ($b \geq 3000 \text{ s/mm}^2$) resultaría en un mayor decaimiento de la señal S .

La ecuación 2.9 determina la relación entre la señal medida S , la señal sin difusión S_0 , el factor b y la difusividad D tanto en un medio libre (Fig. 2.7, panel izquierdo) como en un medio restringido (ADC), a pesar que la relación no es lineal en este último caso (Fig. 2.7, panel derecho). Sin embargo, se asume que el ADC es equivalente a la pendiente definida desde el origen de coordenadas hasta el punto $(b, -\ln(A))$. Además, del gráfico derecho de la Fig. 2.7, se observa que al modificar los parámetros de adquisición que componen b , se modifica también el valor obtenido de ADC para un mismo medio. Esto se debe a que incrementar el tiempo de difusión (equivalente a aumentar el factor b) permite que más moléculas choquen con la membrana celular, disminuyendo el desplazamiento medio de las mismas, reduciendo la atenuación de la señal y llevando a un valor menor de $-\ln(A)$ respecto al caso de medio libre [8].

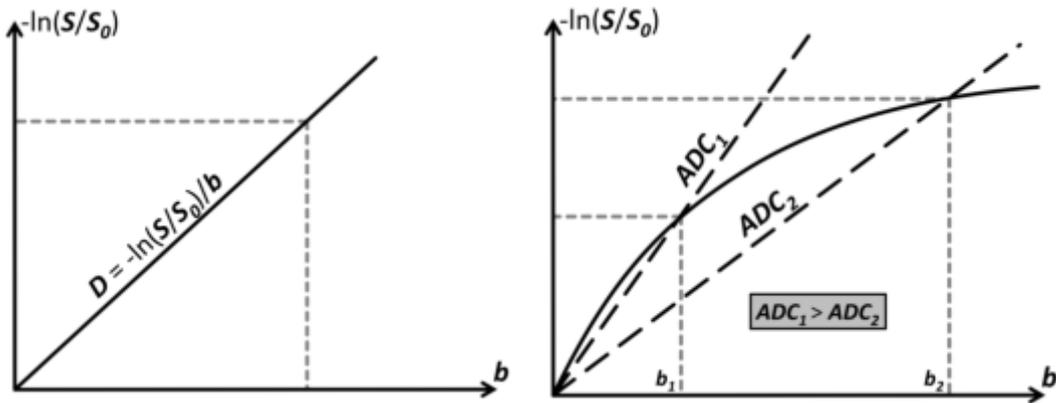


FIGURA 2.7: Relación entre la atenuación de la señal S y el factor b para (izquierda) un medio libre donde la pendiente resulta ser el coeficiente de difusividad D y el mismo no depende del b utilizado; (derecha) medio restringido donde el coeficiente de difusividad aparente (ADC) medido sí depende del factor b utilizado.

2.2.5. Modelo tensorial de difusión

Tal como lo expresa la descomposición de la ecuación 2.6, el ADC de la ecuación 2.9 es descrito por un tensor simétrico de 6 parámetros independientes ($D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}, D_{xy}, D_{xz}, D_{yz}$), donde (x, y, z) son las direcciones principales en el sistema de referencia del imán superconductor del resonador magnético. Esto implica que durante la adquisición de imágenes se necesita aplicar gradientes de difusión \vec{g} en esos ejes principales (x, y, z) , los cuales resultan en 6 direcciones no colineales desde el sistema de referencia del objeto observado [12–14]. Los tres ejes principales del resonador magnético se definen como sigue: x de izquierda a derecha, y de atrás hacia adelante, y z de abajo hacia arriba. En la Fig. 2.8, se esquematizan las 6 componentes del tensor ADC , se observa cómo cambia la imagen de cerebro reconstruida según la dirección del gradiente aplicado. El tensor de difusividad aparente se descompone del siguiente modo:

$$\mathbf{D} = \mathbf{E} \mathbf{\Lambda} \mathbf{E}^T, \quad (2.10)$$

$$\mathbf{E} = (e_1, e_2, e_3) \quad \mathbf{\Lambda} = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix}$$

donde e_i y λ_i ($i=1, 2, 3$) son los autovectores y autovalores del tensor de difusividad aparente. Por convención se ordena $\mathbf{\Lambda}$ tal que $\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$, fijando así el vector e_1 , el cual coincide con la dirección principal de difusión (definida por el elipsoide asociado a la superficie de probabilidad de difusión $p(\vec{r})$).

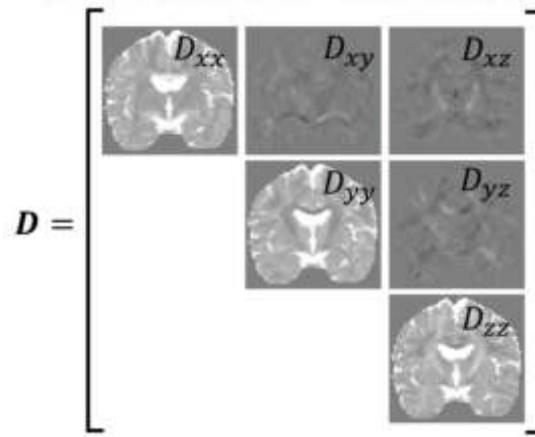


FIGURA 2.8: Esquema de los seis elementos del coeficiente ADC y cómo cambia la imagen reconstruida según la dirección del gradiente aplicado. Si el sistema de referencia de la difusión del cerebro observado fuese el mismo que el del resonador magnético, entonces sólo se tendrían las tres componentes de la diagonal. Los elementos fuera de la diagonal representan la covarianza entre cada par de ejes.

Si se introduce la notación tensorial en la ecuación 2.7, se obtiene el modelo tensorial de difusión:

$$S(\vec{q}) = S_0 e^{-b \vec{q}^T \mathbf{D} \vec{q}}, \quad (2.11)$$

siendo \vec{q} el vector espacial con expresión $\vec{q} = \gamma \delta \vec{g}$.

En este punto resulta importante enfatizar lo siguiente: a través de la ecuación 2.11 se modela la señal adquirida por el resonador magnético, incluso en cada vóxel de la imagen final reconstruida. Es decir que, por cada imagen obtenida se tienen tantos elipsoides (ó esferas, dependiendo el caso) de difusión como vóxeles presentes, permitiendo la descripción de la arquitectura en cada uno de ellos. A modo de ejemplo, en la Fig. 2.9 se presenta la vista coronal de una imagen sin gradientes de difusión aplicados (es decir, la imagen correspondiente a la señal S_0) de un cerebro (izquierda). En el panel derecho, se presenta el desarrollo tensorial de difusión: si el vóxel corresponde a un tejido con difusión isotrópica (como lo puede ser GM o CSF), entonces se obtiene una superficie de difusión con forma esférica, mientras que si el tejido presenta difusión anisotrópica (WM), se obtienen elipsoides. En todos los casos los colores indican la dirección de mayor difusividad de ese vóxel, siendo: de derecha a izquierda rojo, de atrás hacia adelante verde, y de arriba hacia abajo azul.

A partir de la descomposición del tensor de difusión en una base de autovectores con sus respectivos autovalores, es posible definir métricas que caractericen la difusión subyacente, y por ende, la arquitectura y geometría presentes en cada vóxel [15]. Las mismas son invariantes ante rotación, es decir dan información sobre la forma y el tamaño de los tensores en cada vóxel, independientemente de su orientación. A continuación se detallan las métricas básicas de difusión estudiadas en la presente tesis:

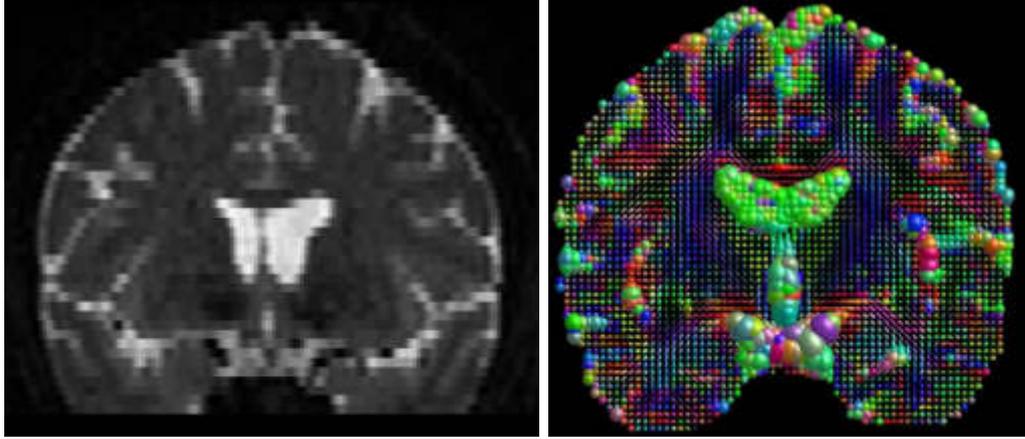


FIGURA 2.9: A la izquierda se observa una vista coronal de una imagen de MRI de cerebro sin gradientes aplicados ($b_0 = 0$), mientras que a la derecha se observan los elipsoides de difusión en los vóxeles que correspondan a WM, mientras que los vóxeles que corresponden a GM o CSF tendrán forma esférica debido a la difusión isotrópica.

- Difusividad media (**MD**): caracteriza el desplazamiento cuadrático medio de las moléculas y la presencia de obstáculos (Fig. 2.10, izquierda).

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \quad (2.12)$$

- Fracción de anisotropía (**FA**): describe cuánto varían los desplazamientos moleculares en el medio y se relaciona con la orientación de las estructuras presentes. Caracteriza la forma del tensor, independientemente del tamaño. Debido a que está normalizada, puede tomar valores de 0 a 1, donde 0 representa un medio perfectamente isotrópico y 1 uno perfectamente anisotrópico (Fig. 2.10, derecha).

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \frac{\sqrt{\sum_i (\lambda_i - \bar{\lambda})^2}}{\sqrt{\sum_i \lambda_i^2}} \quad i = 1, 2, 3 \quad (2.13)$$

con $\bar{\lambda}$ como el promedio de los 3 autovalores.

Este enfoque tensorial fue presentado por Basser y cols. [15] como Imágenes por Tensor de Difusión (**DTI**) y resultó ser un método sencillo y elegante para modelar la información y arquitectura anatómicas de más de 1000 millones de neuronas y axones presentes en el cerebro humano, con sólo seis parámetros por vóxel. Sin embargo, dicha simplificación se convierte en desventaja cuando el método ya no refleja la arquitectura subyacente y lleva a interpretaciones poco precisas o incluso erróneas [16–19]. El principal escenario de esta desventaja se da en vóxeles con múltiples orientaciones de fibras (o **fibras cruzadas**), tal es el caso de dos poblaciones de fibras con distintas direcciones principales (Fig. 2.11 paneles (iii) y (iv)), o incluso una única población de fibras cuya orientación varía en el espacio definido por el propio vóxel (Fig. 2.11 paneles (i) y (ii)) [20]. La consecuencia inmediata de esto, es una incorrecta construcción del elipsoide de

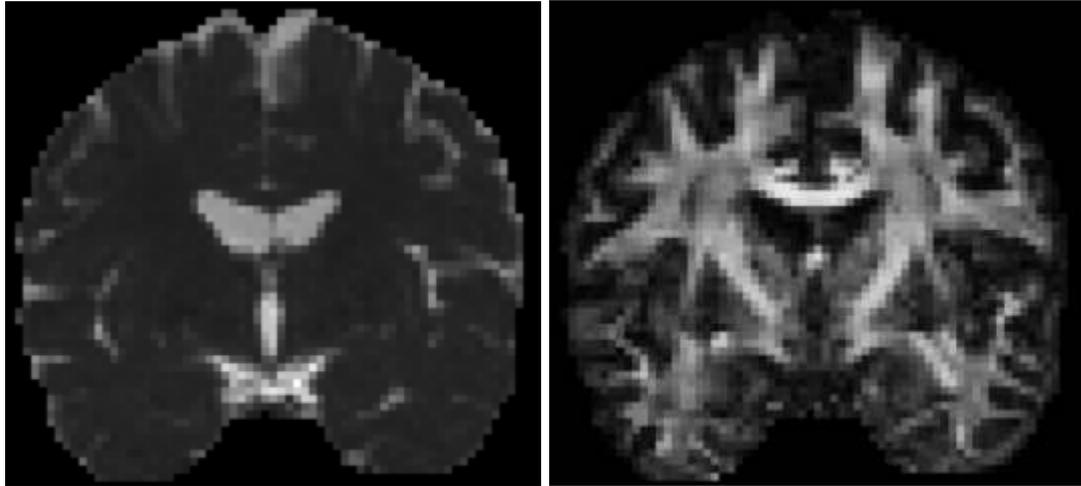


FIGURA 2.10: Contrastes de la difusividad media (izquierda) y fracción de anisotropía (derecha) en la vista coronal de un cerebro.

difusión y por lo tanto un error en el cálculo de las métricas FA y MD (en los vóxeles con fibras cruzadas, la primera suele verse disminuida y la segunda aumentada [16, 21, 22]).

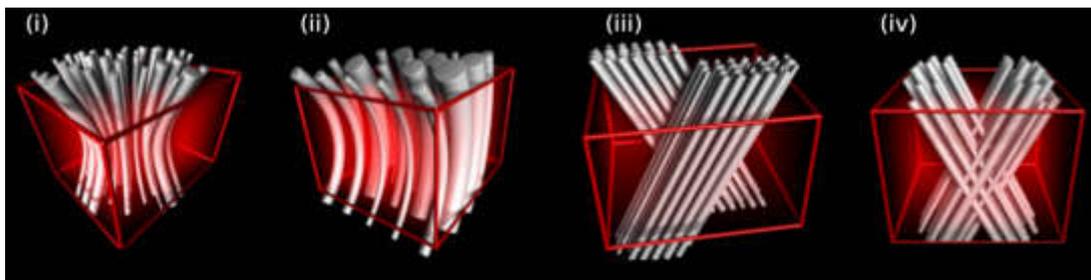


FIGURA 2.11: Posibles casos de fibras cruzadas: (i) y (ii) esquematizan una única población de fibras cuya orientación varía en el espacio definido por el vóxel, mientras que (iii) y (iv) presentan dos poblaciones de fibras en un mismo vóxel con distintas direcciones principales.

Debido a que la presencia de fibras cruzadas en el cerebro representa un 90 % del total de vóxeles de WM [23, 24], se han desarrollado diversos métodos para resolver las limitaciones presentadas por DTI [25]. A continuación se presenta el método utilizado en esta Tesis.

2.2.6. Modelos multitensoresiales de difusión

Como fue mencionado anteriormente, el modelo DTI presenta importantes limitaciones para describir adecuadamente cualquier escenario que no sea el de un haz de fibras coherente dentro de un vóxel. Con tal motivación, se han construido diversas técnicas para resolver el problema de fibras cruzadas, entre ellas técnicas multitensoresiales.

Brevemente, los métodos multitensoresiales extienden el alcance de DTI a múltiples y coexistentes orientaciones de fibras asumiendo que cada una de ellas está caracterizada

por un tensor de difusión. Es así como la expresión Gaussiana para la probabilidad p de la ecuación 2.5 se reemplaza por una combinación de n densidades de probabilidad Gaussianas, donde n es el número de distintas poblaciones de fibras:

$$p(\vec{r}) = \sum_{i=1}^n a_i \frac{1}{\sqrt{(4\pi t)^3 |\mathbf{D}_i|}} e^{-\frac{r^T \mathbf{D}_i^{-1} r}{4t}}, \quad \sum_{i=1}^n a_i = 1 \quad (2.14)$$

Por su parte la señal de difusión $S(\vec{q})$ se sustituye por:

$$S(\vec{q}) = S_0 \sum_{i=1}^n a_i e^{-b \vec{q}^T \mathbf{D}_i \vec{q}}, \quad \sum_{i=1}^n a_i = 1 \quad (2.15)$$

Cómo se puede observar, a medida que aumenta el número n , también lo hará la cantidad de parámetros a calcular en cada vóxel. Para reducir este costo, es posible aplicar diversas restricciones al modelo, por ejemplo: la simetría de cada tensor se asume axial [19, 23], se fija el valor de la anisotropía [19, 23], en ocasiones se incorpora información de CSF o GM de los vóxeles adyacentes [23, 26].

Por otra parte, la limitación más importante de los modelos multitensoriales es que requieren la estimación de la cantidad de poblaciones de fibras n presentes en el vóxel. Generalmente, esto se resuelve mediante la implementación de algoritmos de selección de modelos, los cuales comparan la bondad de ajuste para diferentes valores de n [16, 26], o incluso mediante inferencia Bayesiana [23] con la que se provee la distribución de orientaciones de fibras *a posteriori* utilizando la información de artefactos y ruido.

2.2.6.1. Deconvolución esférica restringida

Uno de los métodos desarrollados dentro del marco de modelos multitensoriales, es la Deconvolución Esférica (SD) [27], la cual fue mejorada en la Deconvolución Esférica Restringida (CSD) [20]. La técnica SD asume infinitas poblaciones de fibras en un mismo vóxel, es decir que ya no se requiere estimar el valor n como fue mencionado anteriormente. SD utiliza una distribución continua de orientaciones de fibras modelando la señal de difusión $S(\vec{q})$ como la convolución entre la función densidad de orientaciones (ODF) de fibras $F(\vec{r})$, representando la fracción de fibras alineadas con \vec{r} , y la función respuesta $R(\vec{q}, \vec{r})$, la cual es la señal de difusión medida para un único haz de fibras con orientación \vec{r} [27]. Incorporando simetría axial al modelo se utilizan coordenadas esféricas, y la señal medida puede ser expresada como:

$$S(\theta, \phi) = F(\theta, \phi) \otimes R(\theta) \quad (2.16)$$

La principal hipótesis de la técnica SD es que la función respuesta $R(\theta)$ es constante por cada tejido biológico del cerebro. A pesar que dicha asunción deja de valer en los

vóxeles con entrecruzamiento de fibras, utilizar una función respuesta inexacta sólo afecta la fracción de volumen de la población de fibras estimada y no su orientación [27]. Conociendo dicha $R(\theta)$, es posible calcular la ODF $F(\theta, \phi)$ aplicando la deconvolución entre ella y $S(\theta, \phi)$. Resulta importante resaltar que la función respuesta se estima directamente de las imágenes de difusión y no depende del método implementado.

Otro de los elementos claves del método, es que es posible estimar la función respuesta $R(\theta)$ mediante el desarrollo de armónicos esféricos [28]. Los armónicos esféricos (SH) forman una base completa ortonormal de funciones sobre la esfera, permitiendo la representación de cualquier función en dichas coordenadas. Los parámetros que los describen son dos: l el orden armónico ($l > 0$) y m el grado ($-l \leq m \leq l$). Debido a que la difusión es un proceso simétrico respecto al origen, todos los componentes de orden impar son removidos, es decir, sólo se consideran $l = 2n$ con $n > 0$. Además, dado que tanto la señal de difusión medida $S(\theta, \phi)$ como la función $F(\theta, \phi)$ son ambas reales, su representación armónica tiene simetría conjugada, por lo que se reduce a la mitad el número de parámetros a estimar [27]. Por último, tener en cuenta que las funciones de la base con orden l más alto corresponden a los modos más altos de frecuencia angular de la esfera, permite truncar la serie de armónicos esféricos. Incorporando todas estas características se obtiene la siguiente expresión de la señal de difusión medida:

$$S(\theta, \phi) = \sum_{l=0}^{l_{max}} \sum_{m=-l}^l c_l^m \cdot Y_l^m(\theta, \phi) \quad (2.17)$$

donde $\{c_l^m\}$ es el conjunto de coeficientes a estimar y l_{max} es el orden en el cual se trunca la serie. Dado que sólo los coeficientes pares son los incorporados al modelo, la ecuación 2.17 tiene $n_c = (l_{max} + 1)(l_{max} + 2)/2$ términos. Por ejemplo para $l_{max} = 8$ se requieren al menos 45 coeficientes a estimar, lo que se traduce en al menos 45 gradientes de difusión aplicados durante la adquisición [27].

Por su parte, la mejora de esta técnica fue desarrollada para restringir el impacto de artefactos propios de las imágenes de difusión y reducir la construcción de ODF de fibras espúreas, tales como las de valor negativo que si bien matemáticamente son correctas, físicamente no representan ninguna orientación de haz de fibras [20]. Esta actualización es la denominada Deconvolución Esférica Restringida (CSD).

En la Fig. 2.12 se presenta una porción de cerebro en su vista coronal y con un mapa de FA superpuesto en colores cálidos: los vóxeles amarillos corresponden a FA cercana a 1 y a áreas de WM, mientras que a los más oscuros le corresponden FA baja. Como ya fue mencionado, los sectores de baja FA pueden asociarse a áreas de GM, CSF o bien entrecruzamiento de fibras de WM. En el panel superior se muestran los elipsoides de difusión obtenidos a partir de DTI: los elipsoides cuyo eje principal es claramente mayor a los demás ejes se corresponden con un valor alto de FA, los elipsoides más esféricos y de mayor tamaño se corresponden con áreas de CSF. En el panel inferior se

exhiben los lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos obtenidos mediante CSD. Los vóxeles con FA cercana a 1 presentan lóbulos de mayor amplitud indicando con mayor precisión la dirección del haz de fibras principal. Además en cada vóxel se observan lóbulos pequeños en distintas direcciones cómo resultado del entrecruzamiento de fibras. Las áreas de GM y CSF desarrollan todos lóbulos de menor amplitud.

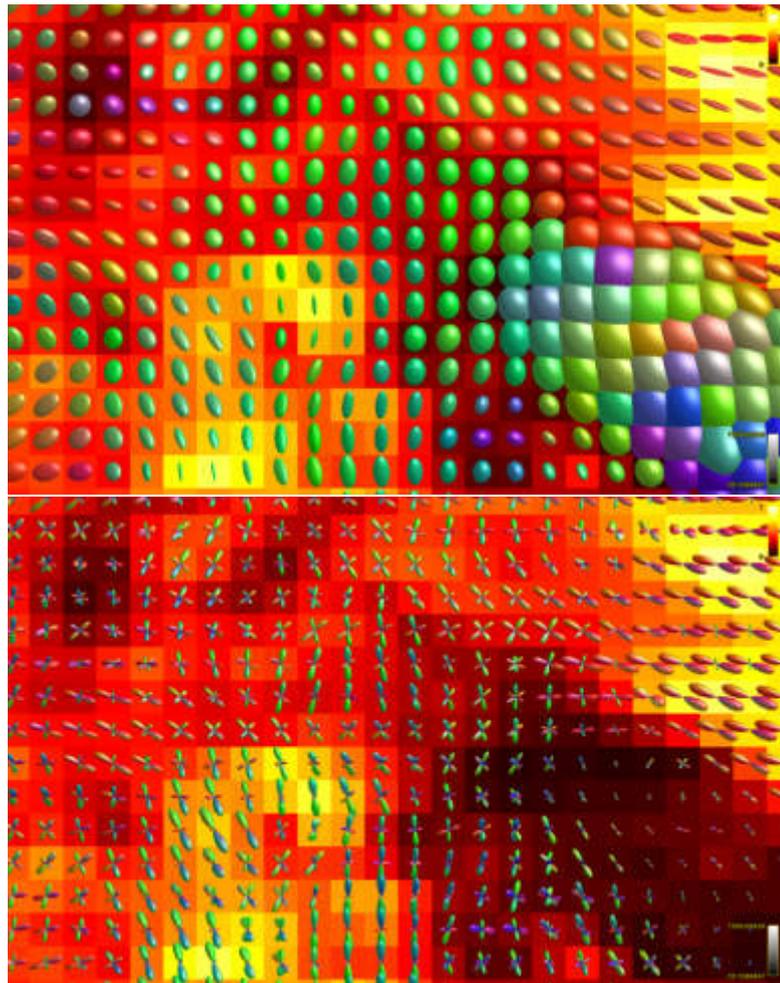


FIGURA 2.12: *Superior: elipsoides de difusión a partir del modelo DTI. Inferior: lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos de la técnica CSD. Ambos modelos se presentan sobre un mapa de FA en colores cálidos (amarillo corresponde a FA cerca a 1, rojo oscuro corresponde a FA cercana a 0) de una porción de cerebro en su vista coronal. Los colores de cada modelo indican la dirección de fibras, siendo rojo izquierda-derecha, verde anterior-posterior y azul superior-inferior.*

2.3. Tractografía

El primer objetivo del análisis de imágenes de dMRI es el estudio de la arquitectura de tejidos biológicos: a través de las técnicas y métricas presentadas es posible describir y cuantificar la microestructura de tejidos. El segundo objetivo es reconstruir

tridimensional las fibras constituyentes de sustancia blanca, mediante el uso de sus orientaciones locales. Este proceso permite inferir los caminos que conectan regiones distantes del cerebro, se denomina tractografía y comprende variadas opciones para su ejecución.

En el escenario más sencillo, en el cual se quiere reconstruir un haz de fibras desde un vóxel inicial (o vóxel semilla) hasta uno final conectando vóxeles contiguos entre ambos, se toma como dirección del haz de fibras de cada vóxel la asociada al mayor autovector del elipsoide de difusión. De este modo, a medida que se avanza en el rastreo y se abandona un vóxel para ingresar al vóxel contiguo, la dirección se ve modificada según la orientación de este último [2]. En la Fig. 2.13 se esquematiza este proceso: el vóxel inicial está indicado con un asterisco y el haz de fibras que se quiere rastrear está representado por la flecha curva y gruesa. Los vóxeles con alta FA, que corresponden a áreas de WM, son los punteados grises, y el haz reconstruido está dado por sus flechas rectas y negras. Las fibras reconstruidas a partir de algoritmos de tractografía, se denominan *streamlines*.

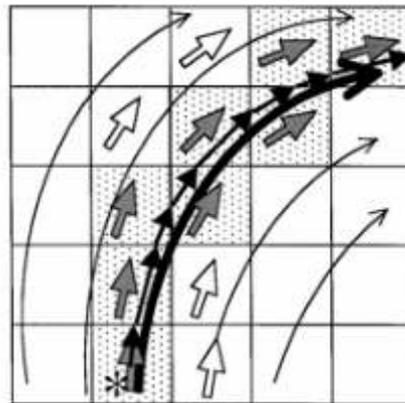


FIGURA 2.13: Figura tomada del artículo de Mori y cols. [2]. Se esquematiza la reconstrucción de un haz de fibras (flechas curvas) utilizando las orientaciones locales de fibras.

Como sucede con otras metodologías, el resultado de la tractografía está fuertemente asociado a la información que se le brinda para su ejecución. Es así como el tractograma resultante varía según si toma como entrada la orientación de fibras modelada mediante DTI o CSD (Fig. 2.14). En vóxeles con arquitectura de fibras compleja, DTI tiende a generar una sub-representación de las orientaciones de fibras subyacente causando falsos negativos (donde *streamlines* pueden finalizar prematuramente) o bien falsos positivos (donde el tracto en construcción pueden confundirse con otros adyacentes no relacionados) [3]. Esta sub-representación de fibras se reduce al utilizar la información local de los vóxeles modelada mediante CSD. Sin embargo, es fundamental tener presente que incluso los modelos más robustos sólo son aproximaciones a partir de toma de decisiones y aplicación de criterios llevando a una simplificación de la realidad.

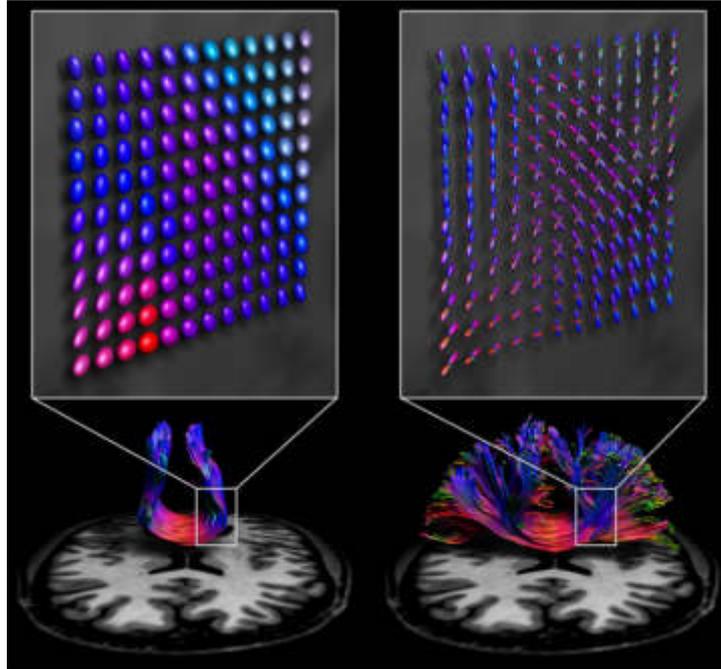


FIGURA 2.14: Figura tomada del artículo de Jeurissen y cols. [3]. Se muestran dos tractogramas obtenidos a partir de información de orientación de fibras local modelada mediante DTI (izquierdo) y CSD (derecho).

2.3.1. Etapas en la ejecución de algoritmos de tractografía

Dado el concepto básico de tractografía, es necesario definir criterios durante su ejecución. En esta sección se tratarán los referidos a las tres etapas del proceso: inicio, reconstrucción de *streamlines* y finalización [3].

1. **Plantar una semilla:** En esta etapa inicial es necesario definir las regiones de interés a partir de las cuales el algoritmo comenzará la generación de *streamlines*. Se requieren conocimientos de neuroanatomía según lo que se espere del resultado de la ejecución. Algunos de los posibles casos son: utilizar una esfera o una máscara que sólo incluya determinada región de GM para reconstruir sus fibras entrantes y salientes; una máscara que abarque toda la región de WM; implementar como semilla la interfaz GM-WM. En las últimas dos opciones se obtiene un tractograma global del cerebro. En todos los casos es posible fijar el número y la distribución de semillas por vóxel: es decir cuántos *streamlines* se generarán por vóxel y cómo se separarán dentro del criterio inicial establecido.
2. **Construir el camino:** Aquí se deberán tener todas las consideraciones necesarias para que el algoritmo genere efectivamente *streamlines* a partir de las semillas establecidas. Principalmente se considera el tamaño del paso, y la longitud mínima y máxima de los *streamlines*.

- Llegar al punto final:** Esta etapa comparte muchas consideraciones con la anterior. La curvatura de los tractos es una de ellas, es decir, si el ángulo entre dos pasos sucesivos es mayor a cierto umbral el algoritmo trunca la generación de ese *streamline*. Lo mismo sucede en el caso que la FA disminuya abruptamente, sugiriendo que se ha alcanzado un área de **GM**. Con estos criterios y los anteriores, se busca un equilibrio entre la generación de tractos espúreos y aquellos que reflejen fielmente la anatomía de las fibras nerviosas.

2.3.2. Tipos de algoritmos de tractografía

En la literatura sobre tractografía se pueden encontrar dos grandes familias de algoritmos, la primera de ellas hace referencia a los denominados **algoritmos determinísticos**, cuyos conceptos básicos son los descritos al comienzo de esta sección y acompañados por la Fig. 2.13. Cabe destacar nuevamente, que estos métodos consideran una única dirección por vóxel y son más sensibles al ruido y artefactos de las imágenes de difusión generando imprecisiones en la propagación de *streamlines*.

Además se han desarrollado **algoritmos probabilísticos** que generan un conjunto al azar de posibles direcciones desde cada punto semilla. Estos algoritmos permiten, no sólo alcanzar las áreas de mayor probabilidad de conexión (es decir, las que resultarían con mayor densidad de *streamlines* propagados), sino también aquellas áreas de alta incerteza y baja probabilidad de conexión, como por ejemplos los lugares con entrecruzamiento de fibras [29]. Dentro de esta familia probabilística, hay un subconjunto de algoritmos que toman en cuenta la distribución de orientaciones de fibras (**FOD**) (como el ejemplo de la Fig. 2.15) y propagan un conjunto azaroso de *streamlines* a partir de ellas. En este caso, lo que intentan reflejar es la dispersión de fibras de un vóxel debido a la microestructura subyacente, resultando en tractogramas considerados más precisos desde el punto de vista biofísico [30]. El tractograma de todo el cerebro presentado en la Fig. 2.16 se obtuvo a partir de un algoritmo de esta clasificación.

Más detalladamente, en la Fig. 2.15 se muestran dos tractogramas obtenidos a partir de diferentes algoritmos: para ambos casos se utilizó el mismo sujeto, la misma información de orientación de fibras (resultante de la ejecución de CSD) y la misma esfera semilla ubicada en el cuerpo calloso. Sin embargo, la diferencia entre ambos tractogramas es muy notoria: el panel izquierdo corresponde a un algoritmo determinístico, el cual propagó un único *streamline*; mientras que el derecho corresponde a uno probabilístico, el cual generó un conjunto de *streamlines* no sólo en la misma dirección que el caso anterior sino también en menor medida en otras direcciones.

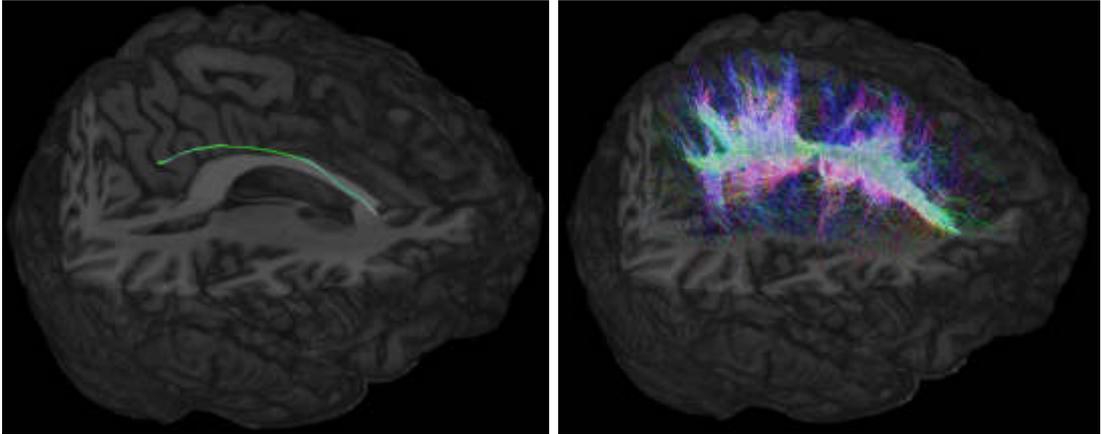


FIGURA 2.15: En el panel izquierdo se muestra un tractograma obtenido a partir de un algoritmo determinístico mientras que en el derecho el resultado de un algoritmo probabilístico. En ambos casos se utilizó la misma región semilla y la ODF de fibras proveniente de CSD.

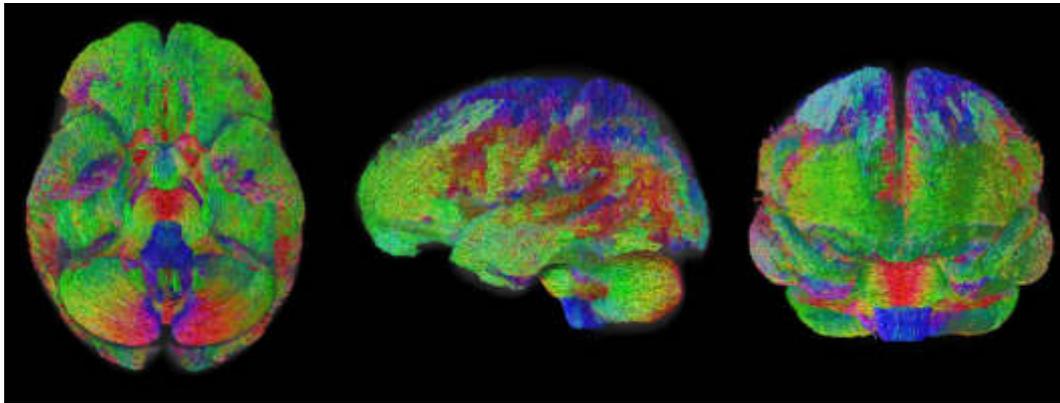


FIGURA 2.16: Tractograma de todo el cerebro en sus tres vistas (axial, sagital y coronal) obtenido a partir del algoritmo probabilístico ifod2. Los streamlines respetan la convención de colores según su dirección.

2.3.3. Formalismo

Matemáticamente, un *streamline* es la curva que a lo largo de su trayectoria, es tangente al conjunto de orientaciones de fibras locales, es representada por $\vec{r}(s)$ y parametrizada por la longitud de arco s . Se denomina campo vectorial a dicho conjunto de orientaciones de fibras locales calculadas a partir de las imágenes de difusión y se lo nota como \mathbf{v} . Para el caso de DTI, el campo vectorial comprende el principal autovector del tensor de difusión mientras que para los modelos multitensoriales la orientación con probabilidad más alta de coincidir con las fibras nerviosas subyacentes. Para que el *streamline* se alinee con el campo vectorial se debe cumplir:

$$\frac{d\vec{r}(s)}{ds} = \mathbf{v}(\vec{r}(s)) \quad (2.18)$$

Dado que la ecuación anterior es diferenciable, es posible resolverla del siguiente modo:

$$\vec{r}(s) = \int_{s_0} \mathbf{v}(\vec{r}(s)) ds \quad (2.19)$$

donde $\vec{r}(s_0) = \vec{r}_0$ es el punto inicial o semilla de la trayectoria del *streamline*. Resolver esta ecuación implica abordar dos aspectos fundamentales: métodos de integración e interpolación de datos discretos al espacio continuo de integración.

El método más sencillo propuesto para resolver la ecuación 2.19 es la integración de Euler, en la cual se comienza en \vec{r}_0 , se calcula la orientación $\mathbf{v}(\vec{r}_0)$ y se sigue esa dirección con un tamaño de paso Δ , hasta obtener el siguiente punto \vec{r}_1 . Se repite este procedimiento iterativamente siendo su expresión general:

$$\vec{r}_{i+1} = \vec{r}_i + \mathbf{v}(\vec{r}_i) \Delta, \quad (2.20)$$

con la orientación $\mathbf{v}(\vec{r}_i)$ considerada constante a lo largo del paso Δ . Esta última condición sobre la orientación trae asociado errores, especialmente en trayectorias curvas y en pasos de gran tamaño. Con el fin de mitigar estas susceptibilidades, se han incorporado métodos de integración numérica más robustos, como Runge-Kutta de segundo orden:

$$\vec{r}_{i+1} = \vec{r}_i + \mathbf{v} \left(\vec{r}_i + \mathbf{v}(\vec{r}_i) \frac{\Delta}{2} \right) \Delta, \quad (2.21)$$

con un error asociado de $O(\Delta^3)$. También se considera el método Runge-Kutta de cuarto orden con error de $O(\Delta^5)$:

$$\vec{r}_{i+1} = \vec{r}_i + \frac{\mathbf{k}_1}{6} + \frac{\mathbf{k}_2}{3} + \frac{\mathbf{k}_3}{3} + \frac{\mathbf{k}_4}{6}, \quad (2.22)$$

siendo

$$\begin{aligned} \mathbf{k}_1 &= \mathbf{v}(\vec{r}_i) \Delta, \\ \mathbf{k}_2 &= \mathbf{v} \left(\vec{r}_i + \frac{\mathbf{k}_1}{2} \right) \Delta, \\ \mathbf{k}_3 &= \mathbf{v} \left(\vec{r}_i + \frac{\mathbf{k}_2}{2} \right) \Delta, \\ \mathbf{k}_4 &= \mathbf{v}(\vec{r}_i + \mathbf{k}_3) \Delta \end{aligned}$$

Cualquiera sea el método utilizado para integrar, en todos los casos interviene la variable Δ que indica el tamaño del paso del algoritmo, lo que muestra que el proceso de integración requiere conocer la orientación de fibras en posiciones arbitrarias. Sin embargo, la distribución espacial de estas orientaciones es discreta proveniente de una grilla. Por lo tanto, es necesario aplicar técnicas de interpolación para lograr una distribución continua que sirva a los fines de la integración. Las técnicas más sencillas estiman las

orientaciones locales mediante la interpolación de vecinos cercanos [2, 31], pero ocasionando mayor propagación de errores. Por su parte, las técnicas de interpolación suave, implementan interpolación trilineal considerando la contribución de los 8 vecinos más cercanos, cada uno con un peso asociado a la distancia al punto de interés.

2.4. Conectividad cerebral

Desde las últimas décadas, las diferentes técnicas de adquisición de señal y las teorías desarrolladas para su análisis permiten abordar el estudio del cerebro de diversos modos. Cualquiera sea la naturaleza de los datos adquiridos, resulta beneficioso estudiar no sólo el cerebro como único elemento, sino también dividirlo en regiones más pequeñas y explorar las relaciones entre ellas. De esta manera, parcelar el cerebro tiene como fin focalizar la característica estudiada, obteniendo resultados más precisos y localizados. Los criterios para parcelar el cerebro son tantos como posibles análisis: en el caso de imágenes de MR, por ejemplo cada vóxel puede ser tratado individualmente como una región, o también se suelen considerar conjuntos de vóxeles contiguos con criterios de interpolación entre ellos o con criterios anatómicos. En este último caso, la función y especificidad de cada región anatómica del cerebro cumplen un rol fundamental en la creación de parcelaciones denominadas atlas cerebrales.

Una de las opciones más interesantes de parcelar el cerebro, es estudiar la relación entre las diferentes áreas obtenidas. Dicha relación se desprende del tipo de datos que se analiza. Por ejemplo, si se cuenta con datos provenientes de imágenes de difusión de MR, como un tractograma, y se decide adicionar una atlas cerebral, se obtendrá lo que se denomina un conectoma estructural, en el cual se le asigna a cada región del atlas cerebral los *streamlines* del tractograma que representen sus fibras nerviosas entrantes y salientes (Fig. 2.17, lado izquierdo). Si bien, cada *streamline* no se corresponde con una fibra nerviosa real, este enfoque permite cuantificar y describir las conexiones referidas a la estructura de WM entre regiones, lo que se conoce como **conectividad estructural (SC)**.

La conectividad estructural no es la única conectividad cerebral disponible a partir de imágenes de MR. Existe también la **conectividad funcional (FC)** la cual se define como la dependencia temporal entre eventos neurofisiológicos, que no necesariamente suceden en áreas contiguas del cerebro. Un modo de calcular esta conectividad es a partir de Imágenes de Resonancia Magnética funcional (fMRI): este tipo de adquisición es sensible al nivel de oxigenación de la sangre de cada región que responde a su actividad neuronal. Mediante herramientas estadísticas, como correlaciones lineales de Pearson, es posible asociar series temporales que describan la actividad hemodinámica de cada región, pudiendo representarse mediante conectomas funcionales (Fig. 2.17, lado derecho) donde las conexiones entre regiones exhiben la sincronización de la actividad de cada par

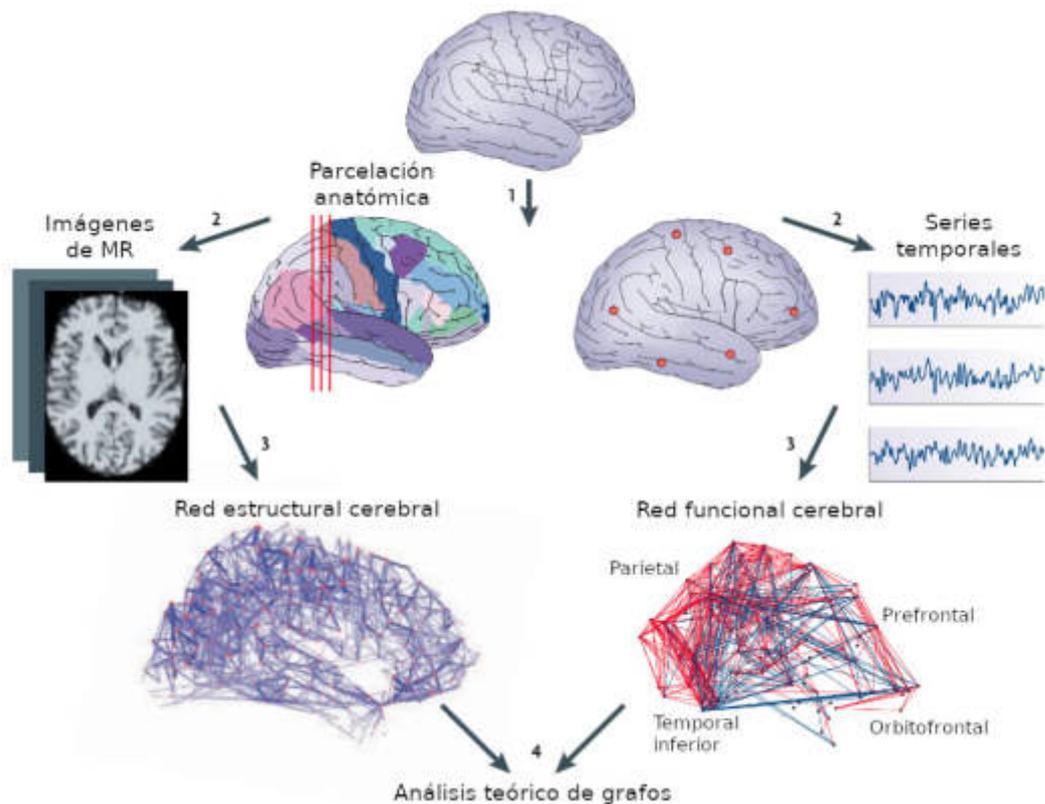


FIGURA 2.17: Figura adaptada del artículo de revisión de Bullmore y Sporns [4]. Se muestra cómo se pueden obtener redes que describan tanto la estructura como la función del cerebro mediante distintos tipos de adquisición.

de regiones [32]. Además, la conectividad funcional puede estudiarse en relación a una actividad cognitiva específica o bien en relación a la actividad basal del cerebro en estado de reposo. Detalles del desarrollo de esta técnica, así como también sus aplicaciones y alcances, pueden encontrarse en el libro de Huettel y cols. [33].

Continuando con la línea de la conectividad cerebral, resulta natural entenderla como redes compuestas por nodos (emulando las regiones anatómicas) y enlaces que los conecten y describan la relación que subyace a cada par de regiones. A continuación se describe la teoría que permite estudiar al cerebro como una red.

2.4.1. Teoría de grafos aplicada a conectividad cerebral

Las estructuras que esquematizan la relación entre distintos elementos y preservan cierta topología intrínseca son las denominadas **redes complejas**. Originalmente, la formalización de estas redes y sus características se enmarcaban en el campo de la Teoría de Grafos, propuesta a partir de grafos aleatorios por Erdős y Rényi [34]. Para ese entonces, las redes de gran escala (es decir, compuestas por gran número de nodos) eran descriptas como **redes aleatorias** complejas compuestas por N cantidad de nodos con probabilidad p de asociación. Con el paso del tiempo y sobre todo de los distintos

escenarios en los que se aplicó este modelo, surgió la inquietud si realmente los sistemas complejos podrían representarse mediante redes aleatorias, o si en verdad habría alguna topología subyacente esperando a emerger y ser representada con métricas más adecuadas.

Para facilitar la descripción de las clases de grafos que se consideran para modelar sistemas complejos, es necesario definir primero algunos conceptos básicos:

- **Grado de un nodo (k):** es el número de enlaces que conectan el nodo con el resto de la red.
- **Distribución de grado:** es el conjunto de todos los grados de nodos de la red. Según el tipo de red, la distribución de grado tendrá una forma matemática diferente.
- **Coefficiente de *clustering* (agrupamiento) (C):** si los vecinos más cercanos a un nodo están directamente conectados entre ellos, entonces forman un *cluster* (o grupo). El coeficiente de agrupamiento mide la proporción de conexiones existentes entre nodos vecinos respecto al máximo número de conexiones posibles.
- ***Path length* (longitud de trayectoria) (L):** es la cantidad de enlaces mínima que comunican un nodo con otro.
- **Modularidad (Q):** muchas redes complejas se organizan en módulos o comunidades, donde cada uno de ellos presenta alta conectividad entre sus integrantes y pocas conexiones con miembros de otros módulos. La modularidad indica cuán segregada está la red.

Como fue mencionado, las redes aleatorias fueron las primeras descritas y utilizadas para modelar relaciones entre elementos. Se caracterizan por tener distribución de grado Gaussiana o de Poisson, bajo coeficiente de agrupamiento y baja longitud de trayectoria (ver Fig. 2.18, derecha). Las **redes regulares** son aquellas que tienen la misma cantidad de conexiones para todos sus nodos, es decir tienen probabilidad de conexión uniforme, y larga longitud de trayectoria (ver Fig. 2.18, izquierda). Por su parte, las redes denominadas **de mundo pequeño** presentan alto grado de agrupamiento de nodos y caminos cortos que los comunican globalmente a través de toda la red [5], siendo su organización intermedia entre el bajo agrupamiento de las redes aleatorias y el alto agrupamiento de redes regulares sin topología alguna (ver Fig. 2.18). Las redes de mundo pequeño son aquellas que podrían describir configuraciones específicas y emergentes del sistema de estudio a través de redes complejas. Debido a su importancia se cuantificaron sus características principales como sigue [35]:

$$\gamma = \frac{C^w}{C^{w-rand}} \quad \gamma \gg 1 \quad (2.23)$$

$$\lambda = \frac{L^w}{L^{w-rand}} \quad \lambda \sim 1 \quad (2.24)$$

$$\sigma = \frac{\gamma}{\lambda} \quad \sigma > 1 \quad (2.25)$$

donde γ expresa la proporción de coeficiente de agrupamiento C y λ la proporción de longitud de trayectoria L respecto a redes aleatorias con igual número de nodos y enlaces. W indica que las redes son pesadas, es decir, cada enlace tiene asignado un valor que lo pondera. Por último σ indica la relación entre el coeficiente de agrupamiento y la longitud de trayectoria obtenidos. Para más detalles sobre estas redes y otras clasificaciones, los lectores pueden referirse al trabajo de Albert y Barabási [36].

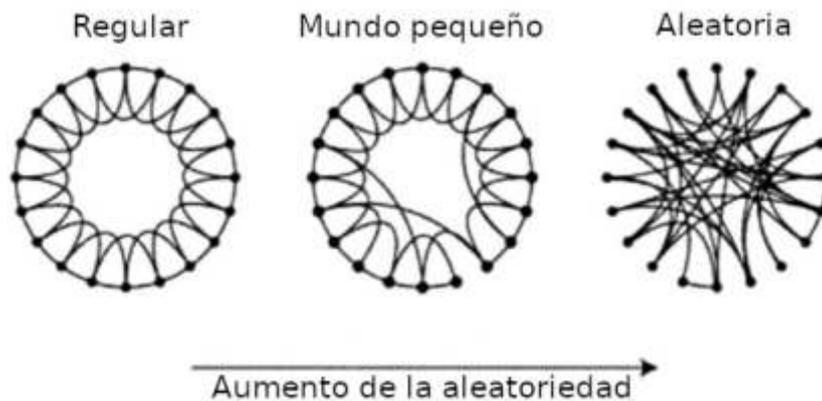


FIGURA 2.18: Figura tomada del artículo de Watts y Strogatz [5]. Esquematiza el comportamiento de las redes a medida que aumenta su aleatoriedad. Las redes de mundos pequeños tienen un comportamiento intermedio entre redes regulares y aleatorias.

El alcance de esta teoría es tal que permite estudiar cualquier sistema real sin importar previamente qué relación existe entre los elementos del mismo. Es posible explorar los diversos aspectos de la conectividad cerebral (como se presenta en la Fig. 2.17), pero también relaciones laborales en un empresa o asociaciones entre genes y enfermedades que los afectan, sólo por mencionar algunos ejemplos. Cualquiera sea el escenario presente es fundamental entender la topología y configuración de la red que lo representa, y a partir de las herramientas disponibles aplicar aquellas métricas que se condicen con el escenario de estudio.

2.4.2. Acoplamiento de conectividades

Considerar el cerebro como un sistema complejo con aspectos característicos diferentes implica poder abordarlo desde diversos puntos de vista. Explorar las conectividades estructural y funcional es una tarea de lo más interesante y para nada sencilla, más aún si el cerebro de estudio presenta alguna perturbación respecto a lo que se considera

un cerebro sano. Sin embargo, más desafiante resulta estudiar lo que podría considerarse como la combinación de ambas conectividades, es decir investigar la relación entre la anatomía que conecta las regiones del cerebro y la sincronización en su funcionamiento durante determinada tarea o incluso en estado de reposo. Es tal el desafío que presenta lograr un **acoplamiento** de conectividades que la comunidad neurocientífica experta en la temática no ha alcanzado un acuerdo en cuanto a la metodología de abordaje y muchos menos a la interpretación de resultados.

Según la literatura actual, se pueden aplicar desde modelos estadísticos como correlaciones entre variables estructurales y funcionales hasta modelos dinámicos. Si bien el primer método mencionado conlleva una implementación sencilla y no establece causalidad entre las variables, resulta adecuado para una exploración inicial y en casos donde la complejidad viene dada por el sistema de estudio y sus propiedades intrínsecas permitiendo interpretaciones más directas [37].

El primer estudio sobre la relación de conectividades fue realizado por Koch y cols. [38], y reporta un resultado de lo más interesante: observaron en sujetos sanos que una fuerte presencia de **SC** implica una fuerte presencia de **FC**, pero no es válida la inversa, es decir, es posible observar fuerte **FC** incluso en regiones que no están conectadas directamente por la estructura. En estudios subsiguientes donde se han aplicado diferentes atlas cerebrales, se han encontrado resultados consistentes con el primero mencionado [37]. También se ha encontrado correspondencia entre las conectividades en subgrupos de regiones que conforman redes definidas, como por ejemplo la conocida red neuronal por defecto (**DMN**, red que presenta funcionamiento basal en estado de reposo) [39].

Por su parte, en los modelos dinámicos donde se incorpora la dependencia temporal de la **FC**, la **SC** suele tener un rol restrictivo: se la considera una guía fundamental para la construcción de modelos neurobiológicamente realistas. Tal es el caso de Stephan y cols. [40], quienes aplican un modelo dinámico causal y reportan mejorar la integración de la **FC** con **SC**, pudiendo ser analizadas ambas bajo el mismo marco de sistemas dinámicos y redes. También se tienen métodos basados en grafos obtenidos a partir de su **SC** y se incorporan los atributos funcionales a través de un modelo dinámico que tiene en cuenta los cambios cerebrales debido al tiempo [41]. Estos métodos pueden echar luz sobre las contribuciones espaciales (arquitectura de **WM**) y no espaciales (sincronización funcional) en la generación de redes de acoplamiento [42] e incluso en la selección de las características más descriptivas para incorporar en los modelos [43].

Teniendo en cuenta estas breves descripciones, es importante considerar que cualquiera sea la metodología aplicada, la conectividad cerebral es un campo en exploración y en constante actualización.

En el siguiente capítulo se presenta una introducción a los conceptos básicos de neuroanatomía necesarios para el desarrollo de la Tesis.

Capítulo 3

Bases de neuroanatomía

El objetivo de este capítulo es introducir nociones básicas sobre el cerebro humano, la enfermedad de Alzheimer y cómo las neuroimágenes pueden contribuir en su detección y diagnóstico. De este modo, el lector contará con todos los conceptos necesarios para el abordaje de la presente Tesis.

3.1. El cerebro humano

El sistema nervioso en los seres humanos tal como se lo conoce hoy en día es el resultado de centenares de millones de años de evolución [44], lo que otorga una idea (al menos aproximada) de su complejidad. Está compuesto por el sistema nervioso central, el cual incluye el encéfalo y la médula espinal, y por el sistema nervioso periférico, el cual está formado por los nervios que conectan el central con el resto del cuerpo humano (ver Fig. 3.1). El encéfalo a su vez, está integrado por el **cerebro**, el cerebelo y el tronco encefálico. Dados los fines de la esta Tesis, esta sección se enfocará en la descripción únicamente del cerebro.

El cerebro es el órgano más complejo del cuerpo humano. Cuenta con diversas capas que lo protegen del mundo exterior (Fig. 3.2). La barrera más externa es la piel. A continuación está el cráneo, el cual tiene un rol fundamental en la protección debido a su dureza y rigidez. Más internamente se encuentran las meninges, compuestas por tres capas: la duramadre, capa fibrosa y fuerte; la aracnoides, capa laxa; y la piamadre, capa suave y de espesor milimétrico que recubre completamente la superficie externa del encéfalo. Entre la capa aracnoides y la piamadre, hay un pequeño espacio ocupado por líquido cefalorraquídeo, el cual le brinda protección inmunológica y también mecánica a todo el encéfalo.

A continuación de las meninges se halla el cerebro que, como fue mencionado en el capítulo anterior, se compone por tres tejidos: la sustancia gris en su mayoría

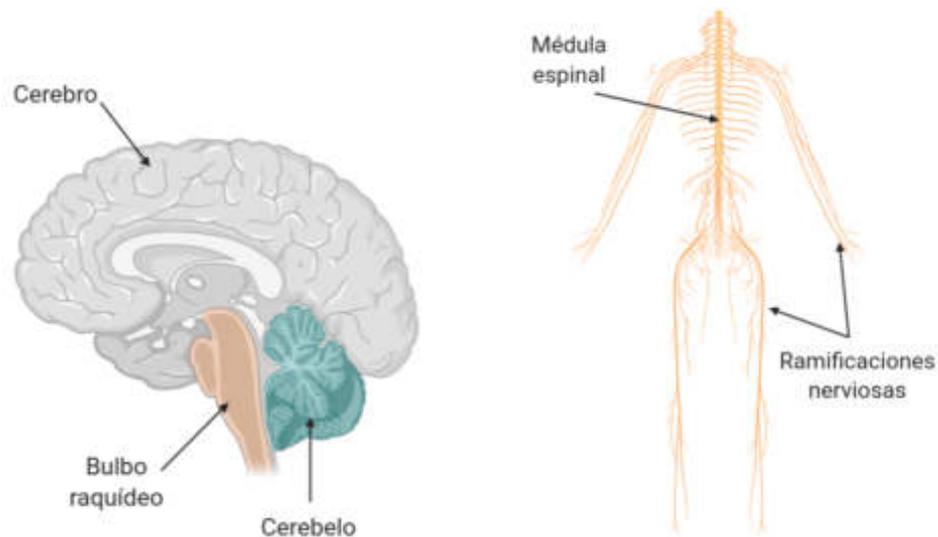


FIGURA 3.1: *Esquema del sistema nervioso: (izquierda) componentes del encéfalo (central): cerebro, cerebelo y tronco encefálico; (derecha) médula espinal (central) y ramificaciones nerviosas (periférico).*

ubicada en la parte más externa denominada corteza cerebral, se encuentra replegada sobre sí misma con el fin de maximizar su superficie y se compone principalmente de los cuerpos neuronales. Por debajo de la corteza se presenta la sustancia blanca, formada por los axones de las neuronas y la mielina que los recubre. En la parte más interior se halla el resto de la sustancia gris conformando las áreas subcorticales, y las cavidades denominadas ventrículos las cuales están rellenas por líquido cefalorraquídeo. Un cerebro humano estándar posee alrededor de 200 mil millones de neuronas bien organizadas y distribuidas, lo que nuevamente indica la complejidad de su arquitectura.

Por último, el cerebro está formado por dos hemisferios (izquierdo y derecho) separados por una hendidura profunda en la línea media, denominada fisura longitudinal

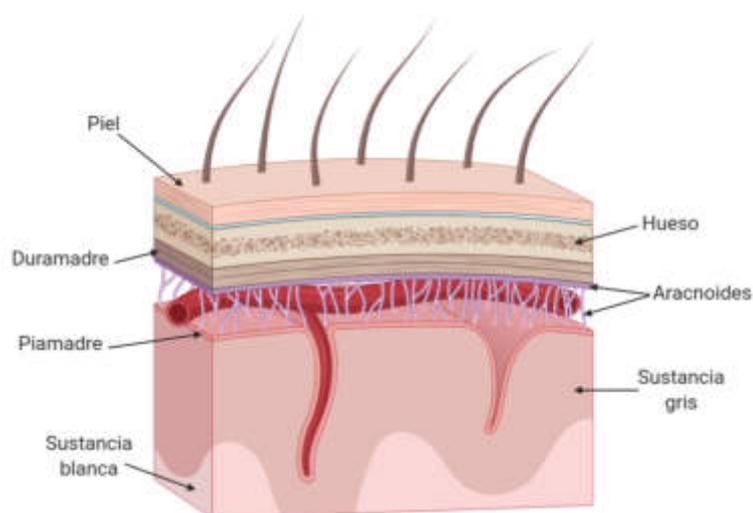


FIGURA 3.2: *Esquema de las capas que recubren y protegen el encéfalo.*

cerebral (Fig. 3.3, panel izquierdo superior). En la profundidad de la fisura se ubica el cuerpo calloso (Fig. 3.3, panel izquierdo inferior), un gran conjunto de fibras nerviosas transversales que unen la corteza cerebral de los dos hemisferios. Cada hemisferio se divide en cuatro lóbulos denominados según los huesos craneales debajo de los que aproximadamente se ubican: frontal, parietal, temporal y occipital (Fig. 3.3, panel derecho).

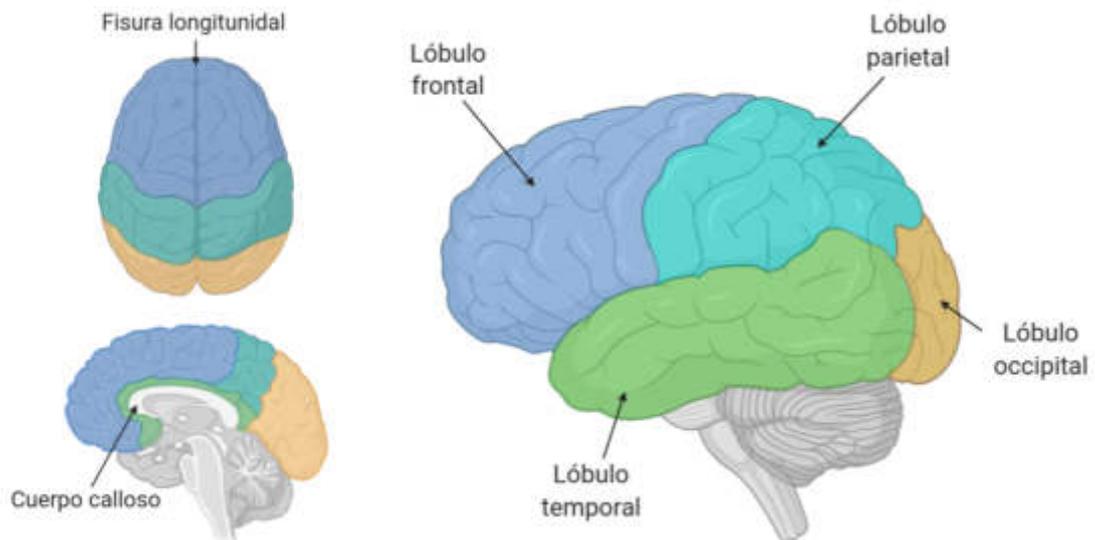


FIGURA 3.3: *Panel izquierdo: se señala la fisura longitudinal (superior) y el cuerpo calloso en su vista sagital (inferior). Panel derecho: lóbulos en los que se divide cada hemisferio del cerebro.*

3.2. Enfermedad de Alzheimer

Como fue presentado con anterioridad, la enfermedad de Alzheimer (AD) es un trastorno neurodegenerativo progresivo de inicio insidioso caracterizado por fallas atencionales y en la memoria reciente, seguidos por dificultades en el lenguaje, desorientación espacio-temporal, y fallas en el pensamiento abstracto, todo esto acompañado por cambios inevitables en la personalidad de quien la padece. La AD es responsable de más del 70 % de todos los casos de demencia en el mundo, afectando entre 5-10 % de la población de más de 65 años y a más del 45 % de los mayores de 85 años. Sin lugar a dudas, la AD representa un gravísimo problema de salud pública mundial [45].

En términos fisiopatológicos, la AD evidencia una atrofia neuronal progresiva caracterizada por el ensanchamiento de ventrículos y profundización de surcos de la corteza (Fig. 3.4, izquierda). Desde el primer caso estudiado de esta demencia a principios del siglo XX hasta la actualidad se ha reportado consistentemente alteraciones en la estructura interna y externa de células neuronales, incluyendo: acumulación de la proteína β -amiloide ($A\beta$) formando placas seniles extracelulares, y deformaciones de la proteína hiperfosforilada τ formando ovillos neurofibrilares intracelulares (Fig. 3.4, derecha). Se cree que las placas $A\beta$ contribuyen a la muerte neuronal interfiriendo en las sinapsis,

mientras que los ovillos neurofibrilares bloquearían el transporte de nutrientes dentro de las neuronas. Como resultado, el funcionamiento cerebral presenta dificultades para metabolizar glucosa y se ve afectado por la muerte neuronal [46].

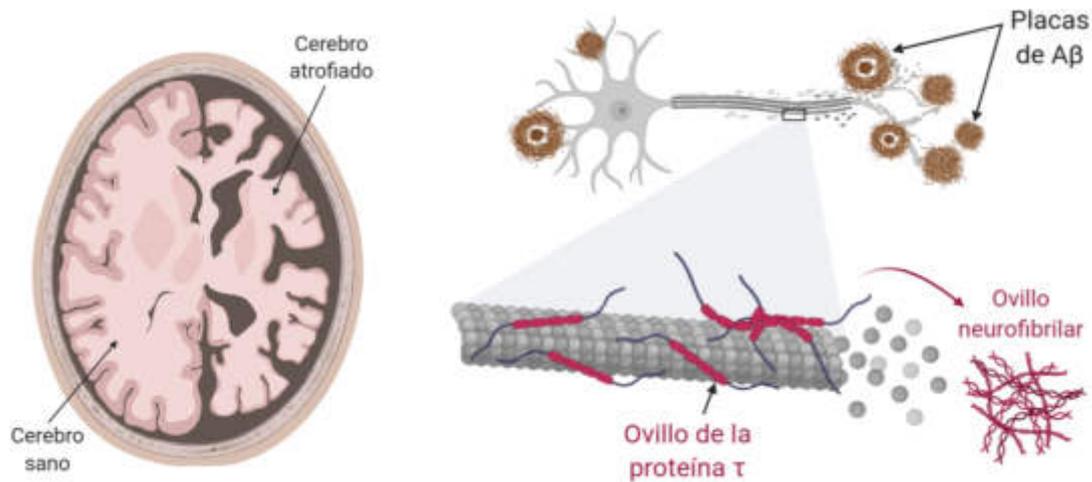


FIGURA 3.4: Izquierda: comparación entre un cerebro sano y uno atrofiado. Derecha: esquema sobre las placas extracelulares $A\beta$ y los ovillos intracelulares de la proteína τ . Estas características patológicas afectan tanto a GM como a WM.

3.2.1. Variantes clínicas y factores de riesgo

Existen dos clases de la AD. La primera es de inicio temprano cuyas manifestaciones clínicas emergen antes de los 65 años, en algunos casos incluso a partir de los 30 años de edad, y es producto de mutaciones genéticas autosómicas de tipo mendeliano, en muchos casos dominantes. La segunda clase, que afecta al 99% de los casos de AD, es de **inicio tardío (LOAD)** donde los primeros síntomas se presentan a partir de los 65 años y sería influenciada por factores ambientales y un factor hereditario de tipo poligénico [47].

Para esta variante LOAD, se ha identificado como el factor de mayor riesgo el envejecimiento ya que el porcentaje de pacientes aumenta conforme aumenta su edad: 3% en personas de 65-74 años, 17% en personas de 75-84 y 32% en individuos mayores de 85 años [46]. Por su parte, el principal factor de riesgo genético es la presencia del alelo $\epsilon 4$ del gen de la apolipoproteína E (APOE). Este gen se encuentra involucrado tanto en la modulación de la acumulación y la limpieza de $A\beta$ como en la regulación del metabolismo de lípidos, reparación neuronal, funcionamiento sináptico, inflamación y funcionamiento mitocondrial [46].

Además del envejecimiento, el mayor factor de riesgo no genético para la enfermedad es contar con un pariente de primer grado con LOAD. Es así como aquellos adultos con un progenitor con LOAD tienen entre 4 a 10 veces mayor riesgo de padecer la enfermedad en comparación con adultos sin este historial familiar [48], y ese riesgo

aumenta si ambos progenitores desarrollaron LOAD [49]. Esta característica dada por el **antecedente familiar** ofrece la oportunidad de detectar y explorar lo que podría ser la enfermedad en sus estadios más tempranos. Considerando esto, diversos estudios realizados sobre poblaciones en riesgo de padecer LOAD debido a antecedentes familiares reportan que las características neuropatológicas principales de LOAD se presentan años o incluso décadas antes del desarrollo de síntomas clínicos. Esto marca la importancia de la detección temprana de dichos aspectos para predecir cuáles individuos con riesgo aumentado desarrollarán la enfermedad y para eventualmente poner en marcha estrategias de prevención secundarias dirigidas a los procesos fisiopatológicos desencadenantes de la enfermedad sintomática.

A continuación se explica el rol clave que tienen las neuroimágenes tanto en el diagnóstico de AD como en la detección temprana en sujetos con riesgo aumentado de padecerla.

3.3. Neuroimágenes en la enfermedad de Alzheimer

3.3.1. Diagnóstico y biomarcadores

Hoy en día, el diagnóstico *in vivo* de AD se basa en la consulta clínica complementada con análisis de neuroimágenes y determinación de ciertas variables en el CSF. Por supuesto, en estos casos la enfermedad comenzó hace años y la atrofia provocada es irreparable. Es por esto que una parte fundamental para la detección temprana de AD, es el desarrollo de técnicas que permitan la identificación de aspectos biológicos que conduzcan a un diagnóstico preciso antes de la aparición de los primeros signos clínicos. Dichos aspectos biológicos se denominan **biomarcadores** y se definen como las características medidas y evaluadas como indicadores de procesos biológicos normales o patogénicos, o respuestas farmacológicas frente a una intervención terapéutica [50]. Más específicamente, un biomarcador debe cumplir con las siguientes condiciones:

- La sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivos y negativos deben ser definidos en al menos dos cohortes independientes.
- La sensibilidad y la especificidad deber ser > 0.80 , con un valor predictivo positivo cercano a 0.90.
- Los estudios deben demostrar suficiente potencia estadística y deben estar publicados en revistas con referato.
- Los estudios deben especificar un grupo control y sujetos con una demencia degenerativa distinta a la AD.

- Una vez establecido el marcador, se debe recolectar y diseminar información adicional para monitorear la utilidad y precisión del mismo.
- Los marcadores propuestos deben ser capaces de detectar rasgos fundamentales de la patología de la AD.
- Deben ser validados en casos confirmados por estudios neuropatológicos.
- Los marcadores deben ser precisos, confiables, en lo posible no invasivos, económicamente accesibles y sencillos de realizar.

Hasta la actualidad se han contrastado datos de estudios *in vivo* con hallazgos *post mortem* y se han aprobado cinco biomarcadores. La técnica de neuroimágenes llamada tomografía por emisión de positrones¹ (PET) tiene validados tres radiotrazadores como biomarcadores que manifiestan los cambios neuropatológicos debidos a la AD: el primero es el compuesto B de Pittsburgh marcado con [11C] (PiB) que refleja la presencia de los depósitos de $A\beta$; el segundo es 2-[18F]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa ([18F]-FDG, PET-FDG) que posibilita la detección del metabolismo de la glucosa en el cerebro, lo cual refleja el metabolismo cerebral neto en tanto indicador de actividad sináptica; y por último el radiotrazador [18F]-THK-523 que evidencia los ovillos neurofibrilares de la proteína τ .

Por otro lado se tienen las imágenes T1 de resonancia magnética para evidenciar atrofia cerebral y neurodegeneración macroscópica de GM. Si bien la atrofia observada no es específica de AD, la misma se encuentra asociada con estudios neuropatológicos en pacientes de la enfermedad [51]. En la siguiente sección se discuten los hallazgos más importantes mediante la aplicación de MRI en pacientes con AD.

Por último existen biomarcadores en CSF, donde se mide la proteína $A\beta_{1-42}$ como indicador de la acumulación de las placas seniles en el hipocampo, y la proteína τ para evidenciar el desarrollo de los ovillos neurofibrilares. Sin embargo, los biomarcadores de CSF sólo se utilizan en investigación por su alto costo, su invasividad, y su rendimiento subóptimo para discriminar entre AD y otra enfermedad neurodegenerativa [50].

Según Lista y cols. [50] es importante resaltar que los biomarcadores se deben aplicar sobre sujetos que están en riesgo aumentado de padecer la enfermedad, ya sea por que presenta síntomas clínicos o por antecedentes familiares, y de ningún modo en el momento actual se deben emplear para estimar la probabilidad de desarrollar la enfermedad. La interpretación de los resultados dados por el estudio de biomarcadores debe ser acompañada por una completada evaluación clínica del paciente.

¹Técnica por imagen capaz de medir la actividad metabólica, consiste en un escáner que detecta la radiación emitida por un radiofármaco (o trazador) previamente inyectado en el cuerpo.

3.3.2. Hallazgos en pacientes y en individuos cognitivamente normales con antecedente familiar de AD

La atrofia cerebral de GM evaluada a través de imágenes T1 de resonancia magnética ha sido validada con estudios histológicos *post mortem* estableciéndose como un biomarcador de la AD [52, 53]. Entre los hallazgos más relevantes se encuentran cambios (incluyendo pérdida de volumen, cambios morfológicos y adelgazamiento de la corteza) en regiones que se ven afectadas en los primeros estadios de AD, como la corteza entorrinal (EC), el hipocampo, el lóbulo temporal y locus coeruleus [54]. Estos cambios en regiones de la corteza cerebral y subcorticales se ven acompañados por anomalías en la microestructura de WM y en los tractos conectores brindando información complementaria.

A pesar de no estar aún validado como biomarcador, la AD también está asociada con el deterioro de los axones, la mielina y las dendritas, componentes primordiales de las neuronas y la WM. En diversos estudios se ha reportado una reducción de la FA y aumento de MD en áreas claves relacionadas con la enfermedad, determinando un compromiso en la integridad de WM, y en la conexión de estas áreas con el resto del cerebro [55]. Además, se ha encontrado un deterioro significativo en la estructura de los caminos de WM asociados a las regiones pertenecientes a la DMN [56].

Por su parte, los métodos para caracterizar la función cerebral tampoco son considerados como biomarcadores pero se han reportado cambios significativos en pacientes con AD respecto a grupo control en la función de la EC, un área relacionada con el lenguaje y los aspectos cognitivos en general [57], y nuevamente en la DMN [54].

Segun lo explicado en la Sección 3.2.1, existe un riesgo aumentado de desarrollar la enfermedad debido a antecedentes familiares y presencia del alelo $\epsilon 4$ del gen APOE, lo que pone a disposición poblaciones de sujetos en estados **preclínicos** de la enfermedad. Estudios realizados sobre poblaciones con al menos una de estas características han reportado cambios en la estructura y funcionamiento del cerebro respecto a grupos controles [58]. Tal es el caso de Bendlin y cols. [59], quienes encuentran una asociación entre tener al menos un progenitor con AD y regiones con baja FA claves en la enfermedad, incluyendo la WM que las rodea. Por último, se encuentran variados estudios que documentan alteraciones en la conectividad funcional [60, 61], desempeño cognitivo [62, 63], y atrofia cortical y subcortical [64–66].

En el próximo capítulo se presentan los métodos aplicados durante el desarrollo de esta Tesis.

Capítulo 4

Métodos y procesamiento de imágenes

Este capítulo detalla los métodos y herramientas utilizadas para llevar adelante esta Tesis. Comienza con los criterios del reclutamiento y la descripción de cada grupo de sujetos. Luego, se especifica el aspecto más técnico, en términos de los parámetros empleados durante la adquisición de las imágenes. A continuación se prosigue con el procesamiento de las imágenes de difusión, para la obtención de la conectividad estructural y métricas de la microestructura de sustancia blanca, y de las imágenes funcionales, para obtener los mapas y matrices de conectividad funcional. Se sigue con la metodología para el acoplamiento de conectividades y las herramientas estadísticas aplicadas. Por último se presentan aspectos generales de métricas que describen el desempeño neurocognitivo y la morfología de sustancia gris.

Antes de comenzar plenamente con el desarrollo experimental, es necesario presentar algunos conceptos y aspectos propios de la manipulación de imágenes. Cuando se habla de las imágenes de MR cerebrales, se refiere a un conjunto de imágenes planas denominadas cortes, que juntas reconstruyen el cerebro observado formando una imagen en 3 dimensiones llamada volumen (Fig. 4.1). Como se detallará en la Sección 4.2, las imágenes anatómicas de contraste T1 constan de un único volumen, las imágenes pesadas en difusión (DWI) están conformadas por tantos volúmenes como direcciones de gradientes aplicados más aquellos sin gradientes difusivos, y por último la cantidad de volúmenes que integran las imágenes funcionales en reposo dependerá de los tiempos de adquisición de la secuencia empleada.

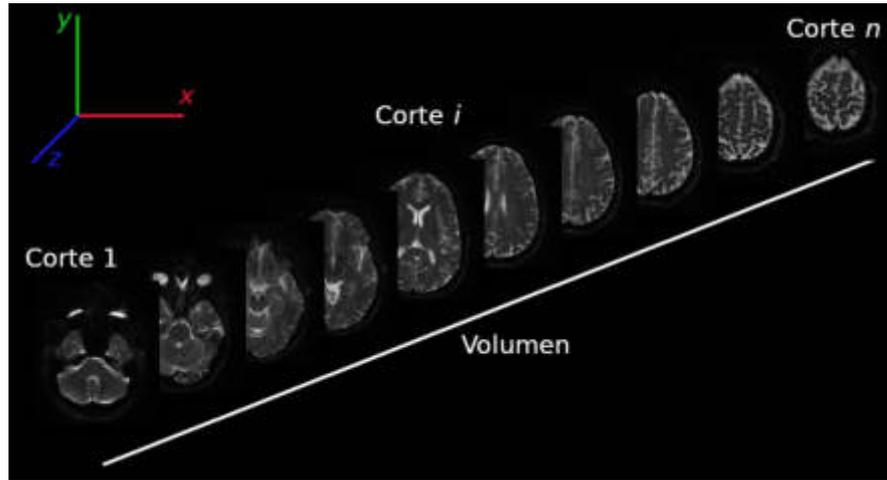


FIGURA 4.1: Conjunto de imágenes planas (cortes) que juntas reconstruyen un cerebro en 3 dimensiones (volumen).

Una vez completo el reclutamiento de los participantes del estudio y adquiridas las imágenes de MR correspondientes, resulta fundamental inspeccionarlas visualmente antes de comenzar cualquier procesamiento sobre ellas. El fin de esta inspección es identificar y localizar artefactos muy notorios que demanden medidas extremas, como la eliminación parcial o total de esa imagen.

Luego de esta exploración, hay una etapa de preprocesamiento cuyo objetivo es limpiar los artefactos y reducir el efecto del ruido aplicando correcciones y filtros sobre las imágenes. Esta etapa también es crucial, ya que las imágenes resultantes son la base para comenzar el procesamiento que conduce a los resultados y más tarde a las interpretaciones.

Para llevar a cabo los métodos descriptos a continuación sobre imágenes anatómicas T1 se utilizó el *software* de código abierto Freesurfer [67], y para las imágenes de difusión se emplearon los *softwares* también de código abierto MRtrix3 [30] y FSL [68]. Para las imágenes funcionales en reposo se utilizó la herramienta SPM [69] implementada en Matlab R2017a. Por último, para la manipulación y cálculos de matrices de conectividad se utilizó también Matlab R2017a.

4.1. Diseño experimental y participantes

En el presente proyecto se han reclutado 32 participantes adultos y asintomáticos pero con riesgo aumentado de padecer la enfermedad que conforman el grupo O-LOAD. Las características cognitivas, morfológicas de GM, de la microestructura de WM y la conectividad cerebral (tanto estructural como funcional) de este grupo han sido comparadas con las obtenidas a partir de un grupo control (CS) de 28 adultos sanos y sin

antecedentes familiares de enfermedades neurodegenerativas en al menos dos generaciones anteriores a la estudiada. Los integrantes de ambas muestras son comparables en edad, género, nivel educativo y sintomatología depresiva.

Los criterios de inclusión para participantes en el grupo O-LOAD fueron los siguientes:

- tener al menos un progenitor diagnosticado con LOAD probable según los criterios establecidos en el Manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, 5° edición (DSM-5) [70];
- sus padres debían alcanzar la edad de 65 años o más;
- tener entre 40 y 65 años de edad al momento del reclutamiento;
- tener 7 o más años de educación formal;
- ausencia de evidencia de enfermedad neurológica progresiva o condición médica que pudiera impactar en el funcionamiento cognitivo;
- ausencia de antecedentes de abuso de sustancias (alcohol, marihuana, estimulantes, benzodiacepinas u otras drogas);
- en el examen que cuantifica el funcionamiento cognitivo, denominado *Mini-Mental State Examination* (MMSE), lograr un puntaje superior a 26 [71];
- en la escala de Hachinski, diseñada para diferenciar entre demencia degenerativa y vascular, obtener un puntaje inferior a 4 [72].

Todos los participantes debieron firmar un consentimiento informado el cual fue aprobado por el comité de bioética de la Fundación Fleni y de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre los “Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos”. Además, debieron completar nombre, fecha de nacimiento, edad de fallecimiento e información clínica de todos los familiares afectados por la enfermedad. En todos los casos se realizó una entrevista entre un médico y otros familiares para verificar los datos reportados, indagando acerca de la sintomatología del progenitor afectado y la progresión de la enfermedad. Para el caso de pacientes que no recibieron tratamiento en la Fundación Fleni, el diagnóstico de LOAD fue certificado por un médico. Además del diagnóstico clínico de LOAD de los padres de los candidatos, se encontraban disponibles estudios MRI estructurales para confirmar presencia de atrofia vinculada a AD y ausencia de enfermedad vascular significativa en los progenitores de 15 participantes.

Respecto a los participantes del grupo CS, se implementaron los mismos criterios de inclusión además del requerimiento de no contar con antecedentes familiares de

cualquier tipo de enfermedad neurodegenerativa. Ninguno de estos sujetos obtuvo resultados de $A\beta$ positivo según los criterios clínicos en la inspección visual de las imágenes realizada por una neuroradióloga experimentada.

4.2. Parámetros de adquisición de MRI

Todas las imágenes fueron adquiridas en la Fundación Fleni, en un resonador de 3T General Electric Signa HDXt (GE Medical Systems, Milwaukee, WI) con bobina de cabeza de 8 canales. Para cada sujeto se adquirieron:

- **imagen anatómica** de alta resolución T1 3D SPGR-IR de 166 cortes sagitales contiguos en una matriz de 256×256 , $TR = 7.256$ ms, $TE = 2.988$ ms, ángulo de inclinación 8° , $FOV = 26$ cm y grosor de corte de 1.2 mm;
- **imágenes de difusión** con 35 direcciones no colineales de gradiente y magnitud $b_1 = 1000$ s/mm² (conformando las **DWI**), y una imagen sin gradientes de difusión ($b_0 = 0$) al comienzo de la secuencia. Se adquirieron 45 cortes en el plano axial con tamaño de vóxel de $(0.93 \times 0.93 \times 2.50)$ mm³, matriz de adquisición de 256×256 , $TR = 12000$ ms, $TE = 88.5$ ms;
- **imágenes funcionales en reposo** con 200 volúmenes aplicando secuencia EPI-GRE de disparo único de 33 cortes contiguos adquiridos intercaladamente con tamaño del vóxel de $(3.75 \times 3.75 \times 4)$ mm³, matriz de adquisición de 64×64 , ángulo de inclinación 90° , $TE = 35$ ms, $TR = 2000$ ms y $FOV = 24$ cm.

4.3. Procesamiento de imágenes anatómicas T1

En el trabajo desarrollado para esta Tesis, si bien las imágenes anatómicas de contraste T1 no son centrales, sí cumplen un rol auxiliar en el procesamiento de las imágenes de difusión. Por un lado se obtuvo una **segmentación** de los tejidos biológicos, es decir, a partir de cada imagen T1 se separó un volumen por tejido como se muestra en el panel izquierdo de la Fig. 4.2. Por otro lado, se dividió el cerebro en pequeñas porciones tanto en GM como en WM formando una **parcelación**.

La obtención de esta parcelación es un trabajo meticuloso y forma parte del proyecto global de hijos e hijas de pacientes con LOAD. Los pasos principales que se ejecutaron a través del *software* Freesurfer incluyeron: eliminación de los tejidos no cerebrales, parcelación de la WM subcortical y estructuras volumétricas de GM profunda, normalización de intensidades, delineado de la interfaz GM/WM y GM/CSF, y corrección automatizada de la topología de cada tejido. Además, se evaluó de forma independiente

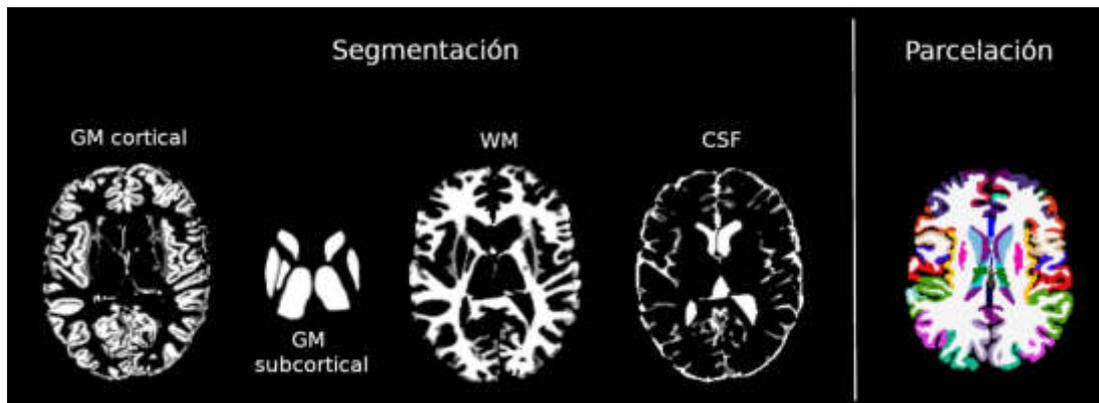


FIGURA 4.2: *Segmentación en tejidos biológicos (izquierda) y parcelación según el atlas Desikan-Killiany (derecha). Ambas imágenes se obtienen a partir de la una imagen anatómica de contraste T1.*

por dos investigadores la morfometría de cada hemisferio obtenido y se los editó manualmente con el fin de corregir imprecisiones topológicas. Como resultado se obtuvo para cada sujeto la parcelación cerebral según el atlas Desikan-Killiany [73] implementado en Freesurfer, y a partir de la cual se obtienen métricas morfológicas de GM como espesor y volumen de áreas corticales de GM y el volumen de áreas subcorticales de GM (Sección 4.8.2). Para más detalles sobre esta metodología referirse al artículo de Duarte-Abritta y cols. [74] y al Apéndice B.1 para el listado de las regiones que componen el atlas Desikan-Killiany.

Para que la comunión de dos tipos de imágenes sea exitosa es necesario que se encuentren en el mismo espacio matricial. Es decir, debe haber una equivalencia en las escalas espacial y de intensidad de las imágenes, que se logra a través del proceso llamado registración o bien del llamado normalización dependiendo el caso. El primero se da cuando se trata de hacer transformaciones espaciales con imágenes de un mismo sujeto, por ejemplo imagen T1 y de difusión, y se implementan transformaciones lineales o de cuerpo rígido, mientras que si se quiere una equivalencia de un mismo tipo de imágenes en un grupo de sujetos, se ejecutan transformaciones no lineales conformando la normalización.

En este trabajo, se registraron las imágenes T1 (y sus parcelaciones) con las imágenes de difusión de cada sujeto con el comando `flirt` del *software* FSL, en otras palabras: se movió cada imagen T1 al espacio de su contraparte difusiva. Hacer la transformación lineal en este sentido evita tener que reorientar los gradientes de difusión y así posibles distorsiones en la orientación y dirección de fibras.

4.4. Procesamiento de dMRI

En esta sección se explican las diferentes etapas en el procesamiento de las imágenes de difusión una vez adquiridas hasta la ejecución de la tractografía probabilística y la obtención de métricas para el estudio de la microestructura de WM. La Fig. 4.3 presenta un diagrama de flujo de este procesamiento.

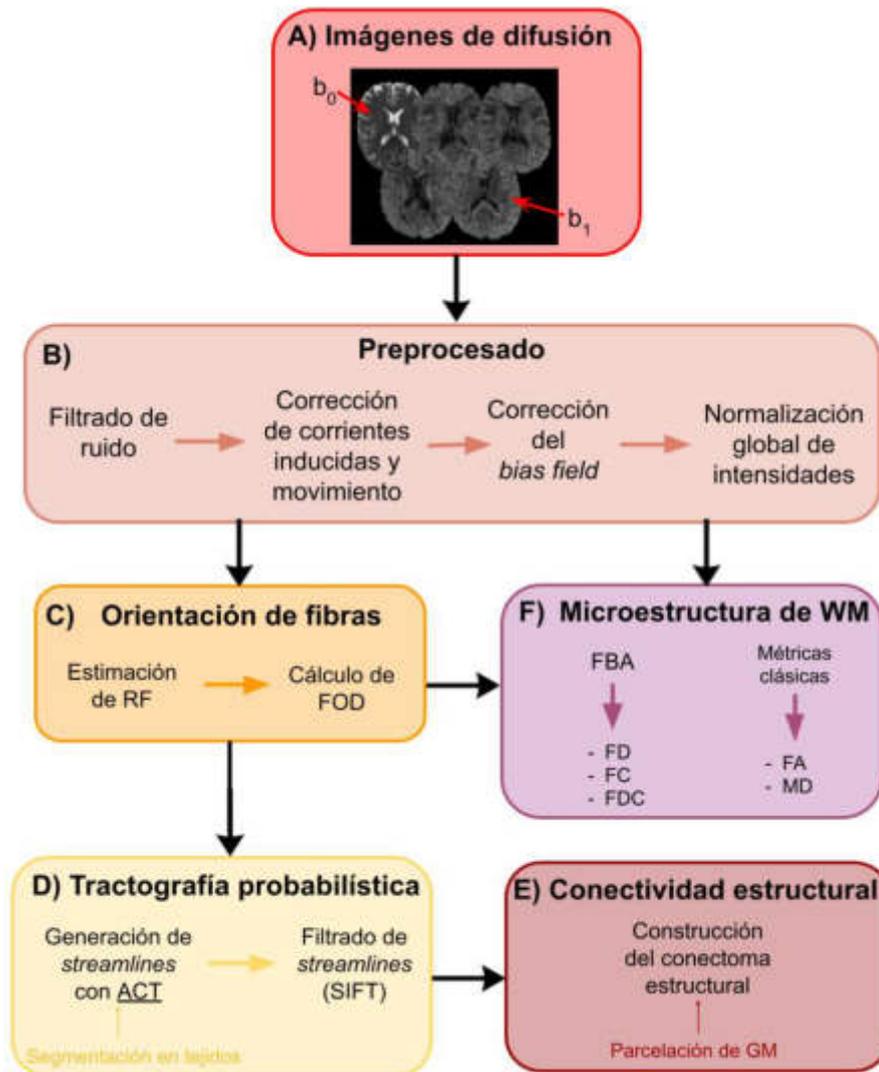


FIGURA 4.3: Etapas del procesamiento de las imágenes de difusión una vez adquiridas (panel A) hasta la obtención de las métricas de microestructura de WM (panel F) y los conectomas estructurales (panel E), pasando por el preprocesado (panel B), la obtención de la orientación de fibras (panel C) y la tractografía probabilística (panel D).

4.4.1. Preprocesamiento

La señal de dMRI resulta sensible a los movimientos estocásticos de las moléculas de agua y su interacción con el medio que las rodea. Sin embargo, esta señal también es sensible al **ruido térmico** propio de dichos movimientos, provocando la atenuación

de la señal medida y llevando a una relación señal-ruido típicamente baja. Esto se ve reflejado en los parámetros difusivos de interés que se calculan a partir de las imágenes de difusión. Con tal motivación, el primer paso del preprocesamiento fue la reducción de fluctuaciones en la señal reflejadas en la imagen reconstruida debidas al ruido térmico. Para esto, se aplicó un algoritmo que estima el ruido y luego lo filtra utilizando teoría de matrices aleatorias [75].

A continuación se corrigieron las distorsiones debidas a **corrientes inducidas** y **movimientos de los sujetos**. En primer lugar estas corrientes, también llamadas de Foucault, son producidas a partir de los cambios en los gradientes aplicados durante la adquisición causando artefactos sobre la imagen final. Una vez hecha esta corrección, se procede a reducir los artefactos provocados por los movimientos involuntarios de los sujetos dentro del resonador. Este último tipo de artefactos resulta inevitable y su impacto en la imagen depende del rango de movimiento (que suele ser desde fracciones de milímetro a fracciones de centímetro). El algoritmo aplicado predice cómo debería lucir cada volumen de la imagen de difusión y la compara con la imagen observada, luego esta información es utilizada para actualizar la estimación del campo de corrientes inducidas y la posición del sujeto [76].

La siguiente corrección está relacionada con **inhomogeneidades** producidas por el campo de las radiofrecuencias, que producen un artefacto conocido por su nombre en inglés: *bias field*. A pesar que este artefacto tenga bajo impacto visual sobre las imágenes, suele traer distorsiones que perjudican instancias más avanzadas del procesamiento. Este *bias field* fue estimado y reducido mediante un algoritmo de esperanza-maximización utilizando estimadores de máxima verosimilitud [77].

Por último, se normalizó de forma global y automática la intensidad media de WM utilizando la imagen no difusiva (es decir, el volumen b_0) de cada sujeto de la muestra. Esta **normalización de intensidades** resulta sumamente necesaria ya que corrige variaciones en dos niveles: el primero a través de los sujetos, ya que es posible que el rango de intensidades de un sujeto varíe respecto a otro; el segundo dentro de un mismo sujeto, ya que en los vóxeles que presentan más de un tejido (por ejemplo, WM y CSF en el área alrededor de los ventrículos) puede haber sobre-estimación de la intensidad de uno de ellos. Omitir esta normalización puede resultar en un incorrecto y poco preciso cálculo de las métricas difusivas de interés.

Los comandos ejecutados en esta primera etapa de corrección y filtrado forman parte del *software* MRtrix3 y son: `dwidenoise`, `dwipreproc`, `dwibiascorrect`, y `dwiintensitynorm`. El panel B de la Fig.4.3 esquematiza esta etapa.

4.4.2. Función respuesta y distribución de orientaciones de fibras

Como fue explicado en la Sección 2.2.6, las orientaciones de fibras presentes en cada vóxel pueden ser calculadas conociendo la señal de difusión medida y la función de respuesta de WM al campo magnético aplicado. Así se han desarrollado algoritmos que se complementan con modelos multitensoresiales como **CSD**, para estimar la **función respuesta** de todos los tejidos a partir de un conjunto de vóxeles y así disminuir distorsiones, principalmente en vóxeles que presentan más de un tejido [78]. Sin embargo, muchas veces existe una limitación técnica, originada durante la adquisición que restringe aún más el pequeño universo de algoritmos para dicha estimación. Esta limitación es la cantidad de factores b aplicados (es decir, cuántos $b \neq 0$ se utilizaron durante la adquisición): en breves palabras cuántos más factores b se hayan aplicado, mejor se van a poder distinguir los tejidos y más acertada será la estimación del perfil de la señal de cada uno. Debido a que cada vez más imágenes de difusión pensadas desde una perspectiva clínica se procesan también con un fin científico de investigación, es que se están desarrollando algoritmos que permitan ejecutar este paso del procesamiento con la mayor precisión posible sin importar la cantidad de $b \neq 0$ aplicados. Los datos aquí procesados cuentan con una “única cáscara”, es decir con un único $b \neq 0$ aplicado ($b_1 = 1000 \text{ s/mm}^2$). Se ha ejecutado el algoritmo automático y no supervisado `dwi2response dhollander`, el cual selecciona el conjunto de vóxeles más apropiado comparando las características difusivas de las funciones respuesta de cada tejido (Fig.4.3 panel C) y empleando la información proveniente del único b_1 adquirido [79].

El siguiente paso consistió en calcular la función densidad de orientaciones (**ODF**) de fibras por vóxel en una base de armónicos esféricos (**SH**), utilizando la estimación de la función respuesta de cada tejido. Como resultado se obtuvo una imagen que contiene las **distribuciones de orientaciones de fibras (FOD)** representadas en los coeficientes de SH como lóbulos. Se ejecutó entonces el comando `dwi2fod msmt_csd`, el cual mejora significativamente la precisión de las imágenes FOD y reduce la presencia de lóbulos espurios en el desarrollo de SH respecto a su algoritmo predecesor `dwi2fod csd`. Ambos efectos benefician la generación de mapas de métricas de microestructura de WM y de *streamlines* en la tractografía [78]. Respecto al desarrollo de SH, el grado máximo posible depende del número de direcciones de gradientes aplicados [27], en este caso al contar con 35 direcciones no colineales se alcanzó el orden máximo $l_{max} = 6$.

4.4.3. Tractografía probabilística

Como fue introducido en la Sección 2.3, el proceso de tractografía requiere tomar diversas decisiones para que su ejecución sea acorde a los datos en cuestión y el resultado lo más fidedigno posible. En este caso se optó por un **algoritmo probabilístico** que toma como entrada la imagen FOD obtenida anteriormente, trabaja con integración a

segundo orden e interpolación trilineal (`tckgen iFOD2`) [80]. Para cada sujeto se utilizó su propia imagen FOD como semilla y se aplicó un proceso dinámico en esta primera etapa, el cual estima la densidad de fibras en la WM y junto con la información de la amplitud de lóbulos, identifica y actualiza las regiones con mayor probabilidad de generar *streamlines*. Este mecanismo asume que habiendo previamente corregido y filtrado ruido y artefactos, la densidad de *streamlines* debería ser consistente con la densidad de fibras [81].

Por su parte, el tamaño del paso en cada iteración fue de la mitad de la longitud del vóxel en la dirección de propagación, el ángulo máximo permitido entre pasos de 90°, la longitud mínima de cada *streamline* del doble del tamaño del vóxel mientras que la máxima fue fijada en 250 mm (parámetros establecidos por defecto y utilizados ampliamente [80]). Además para el crecimiento (y finalización) de los *streamlines* no sólo se consideraron estos valores usuales, sino también se complementó con la información anatómica proveniente de los tres tejidos biológicos. Este enfoque se denomina **tractografía anatómicamente restringida (ACT)** y emplea la segmentación en tejidos obtenida a partir de la imagen T1 de cada sujeto [82]. Como criterio de finalización se aplicó que se trunque la propagación al alcanzar la interfaz GM-WM. Con todos estos criterios se obtuvieron 10 millones de *streamlines* por tractograma.

A pesar de los criterios implementados, la reconstrucción de fibras nerviosas a través del proceso de tractografía se ve afectada por las limitaciones propias de la adquisición de las imágenes y del posterior procesamiento, causando la disminución en la precisión biológica del tractograma resultante. Con el fin de mejorar esta precisión biológica es que se emplean herramientas que complementen el proceso de reconstrucción con información anatómica. En este conjunto de herramientas se encuentran la ACT y el mecanismo dinámico de semilla mencionados anteriormente. Este último forma parte del método llamado **filtro informado por deconvolución esférica de tractogramas (SIFT)** diseñado para mejorar retrospectivamente el tractograma: filtra los *streamlines* que mejor representan la composición anatómica de la WM basándose en la información brindada por deconvolución esférica ya calculada [83]. Ejecutando el comando `tcksift` se filtró cada tractograma de 10 millones de *streamlines* generados originalmente a 2 millones (Fig. 4.3, panel D).

4.4.4. Conectividad estructural

Haciendo uso del tractograma filtrado y la parcelación anatómica de la imagen T1, se obtuvo un **conectoma estructural** para cada sujeto (Fig. 4.3, panel E). La información de cada conectoma se almacena en una matriz cuadrada, simétrica y no binaria (pesada), donde cada fila/columna es una región de la parcelación utilizada y cada elemento de matriz es la cantidad de *streamlines* generados y asociados al par de regiones involucradas en esa conexión determinada. En este caso se seleccionaron 84

regiones corticales y subcorticales de GM del atlas de Desikan-Killiany. Los conectomas obtenidos son no dirigidos, puesto que para el elemento de matriz C_{ij} el comando ejecutado (`tck2connectome`) promedia la cantidad de *streamlines* generados desde la región i hacia la región j con los generados en el sentido contrario (desde la región j hacia la i) obteniéndose el mismo valor que para el elemento C_{ji} .

Si bien se ha avanzado notablemente en el desarrollo de algoritmos de tractografía mejorando sus resultados, este proceso no deja de ser una mera reconstrucción espacial de las fibras nerviosas que componen el cerebro, y por lo tanto siempre tiene asociado un grado de incerteza. Esta incerteza existe (en mayor o menor medida) independientemente del tipo de algoritmo y filtros ejecutados, y se traslada a los conectomas estructurales donde se encuentran valores de pocas unidades hasta las decenas de miles de *streamlines*. Debido a esto es que se abren nuevos interrogantes, que en su mayoría aún se encuentran en debate, por ejemplo:

1. ¿Cuál es la mínima cantidad de *streamlines* que se requieren para considerar que *existe* conexión entre dos regiones cerebrales?
2. ¿A qué se debe el amplio de rango en la cantidad de *streamlines* generados entre dos regiones?
3. ¿Esta variabilidad es fiel a la anatomía?
4. Cuando se genera una pequeña cantidad de *streamlines* entre dos regiones, ¿es debido a fluctuaciones del método? ¿Es correcto desestimarla frente a elementos de matriz de varios miles o incluso de mas de una decena de miles de *streamlines*?
5. ¿Qué sucede al comparar el mismo par de conexión entre todos los sujetos de un mismo grupo?

Con el objetivo de responder estas preguntas, se han implementado diferentes estrategias inspiradas a partir de metodologías reportadas en trabajos científicos previos. En primer lugar, partiendo de la idea que el cerebro debe comportarse como una red integrada que transmite información entre las regiones que la componen, se exploró globalmente el comportamiento de cada grupo respecto a las características topológicas de un conectoma promedio. Es decir, para cada grupo se calculó un conectoma promedio, a partir de los conectomas individuales de cada sujeto, y se definió como **conexión** (\mathcal{C}) a cada elemento que tenga al menos u cantidad de *streamlines*, de lo contrario ese elemento se reemplazaba por 0 [84]:

$$\mathcal{C} := \begin{cases} C_{ij} & \text{si } C_{ij} \geq u \\ 0 & \text{si } C_{ij} < u \end{cases}$$

Donde u es un elemento del conjunto de umbrales $\mathcal{U} = \{10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600\}$.

Para cada conectoma promedio y umbralizado se calcularon los tres coeficientes que definen una **red de mundo pequeño** (γ , λ y σ ; Ecs. 2.23, 2.24, 2.25) y se eligió el conectoma que mejor representaba ese tipo de redes en cada grupo. A partir de dicho conectoma promedio y umbralizado seleccionado, se aplicó el mismo umbral a los conectomas individuales de cada grupo para continuar el análisis. Es decir, se estudiaron las características de redes de mundo pequeño sobre el conectoma promedio de cada grupo y luego fueron trasladadas a los conectomas individuales empleando el mismo umbral.

Teniendo ya los conectomas de cada sujeto que responden a las características de redes de mundo pequeño, se buscaron diferencias significativas en los valores de conexión entre los grupos. Para esto se aplicó el *test* de suma de rango Wilcoxon (equivalente a una prueba en U Mann-Whitney), seguido por correcciones múltiples implementado en el algoritmo *False Discovery Rate* Benjamini-Hochberg (**FDR-BH**) (ver Sección 4.7).

Por último, también se calcularon las siguientes métricas sobre los conectomas de cada sujeto: distribución de grado, coeficiente de agrupamiento, eficiencia local y global, intermediación de enlaces y de nodos. En todos los casos se buscaron diferencias significativas entre grupos y se aplicaron correcciones múltiples.

4.4.5. Microestructura de sustancia blanca

Si bien se sabe que las métricas derivadas del tensor de difusión, como fracción de anisotropía (**FA**) y difusividad media (**MD**), son apropiadas sólo en algunos casos y que presentan limitaciones para describir la microestructura es regiones con entrecruzamiento de fibras, se decidió incorporarlas en este estudio para tener una primera inspección de la microestructura de la sustancia blanca (WM) y utilizarlas como información complementaria de otras métricas nuevas y que podrían resultar más detalladas (Fig. 4.3, panel F). Así se calculó para cada sujeto los mapas de FA y MD con el comando `dtifit` del *software* FSL.

Lo que se buscó en esta instancia es encontrar métricas que cuantifiquen la arquitectura global de la WM y también aquellas características sutiles pero genuinas de cada grupo. Con esta motivación se aplicó el análisis basado en *fíxeles* (**FBA**) [85], donde un fíxel se refiere a una población de fibras dentro de un vóxel, pudiendo haber más de un fíxel por vóxel y mejorando así la resolución espacial. A través del FBA se logran obtener las siguientes tres métricas para evaluar la microestructura de WM:

- **densidad de fibras (FD)**: derivada de las imágenes FOD, cuantifica el volumen restringido por el compartimiento intra-axonal para cada fíxel y su concentración de fibras. Es especialmente sensible a alteraciones en la microestructura dentro de un vóxel. Todos los valores obtenidos se normalizan espacialmente a una plantilla

estándar con el fin de hacer una comparación grupal de esta métrica (Fig. 4.4 a, [6]).

- **sección transversal de un haz de fibras (FC):** esta métrica mide el volumen de un fíxel en términos de la cantidad de vóxeles que ocupa y no de la cantidad de axones presentes. Es decir, esta métrica es sensible a si se contrae o dilata la sección transversal de un haz de fibras sin importar si la cantidad de axones se ve modificada (Fig. 4.4 b, [6]).
- **sección transversal y densidad de fibras (FDC):** esta medida es la combinación de las dos anteriores, en la cual una diferencia en la sección transversal de un haz es acompañada por un cambio en la densidad de sus fibras (Fig. 4.4 c, [6]).

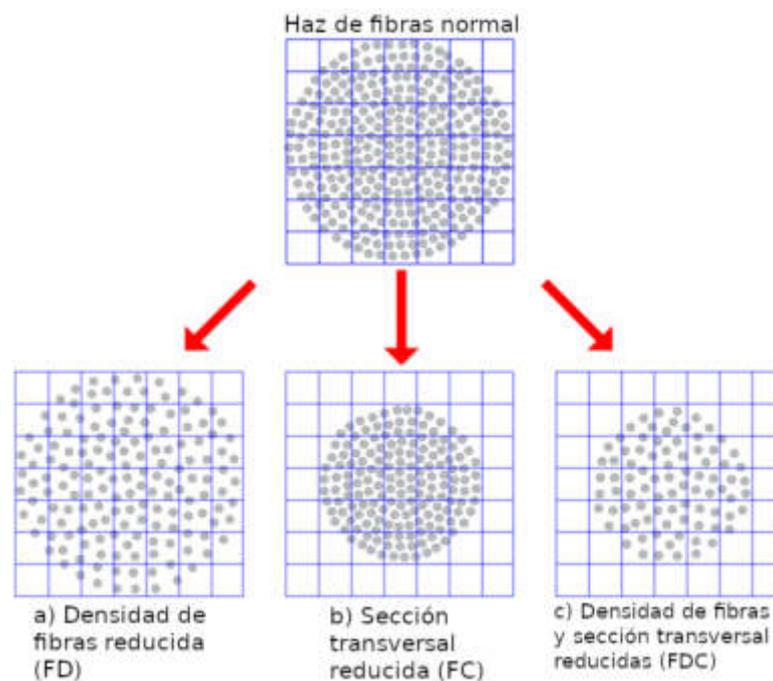


FIGURA 4.4: Figura adaptada del artículo de Raffelt y cols. [6]. Se esquematizan las tres métricas que describen posibles cambios en la microestructura de WM, desarrolladas dentro del análisis basado en fíxeles (FBA).

4.4.6. Análisis basado en fíxeles

En el trabajo de Raffelt y cols. [6], se presenta el método estadístico FBA que permite estudiar un haz de fibras dentro de un vóxel basándose en la información proveniente de CSD y caracterizando incluso las áreas que presentan entrecruzamiento de fibras.

En primer lugar, se debió construir una imagen FOD que represente toda la muestra y se encuentre en un espacio común a todos los sujetos. Debido al tiempo de cómputo

que implica la construcción de esta **imagen FOD plantilla**, se seleccionó un subconjunto de 20 sujetos de cada grupo, similares en edad y manteniendo las características generales de la muestra total. También se construyó una **máscara-plantilla** la cual delimita las áreas que participan del análisis. Utilizando ambas plantillas, se **identificaron los fíxeles** que contribuyeron al posterior análisis estadístico. Es decir, la máscara-plantilla delimitó el área de la cual se debía extraer la información de orientación de cada población de fibras en cada vóxel de la imagen FOD plantilla. Además, se fijó un umbral con el fin de limpiar aquellos fíxeles que corresponden a lóbulos muy pequeños y que podrían introducir ruido y artefactos. La Fig. 4.5 muestra para un sector del cerebro en su vista coronal el desarrollo de armónicos esféricos y sus correspondientes fíxeles.

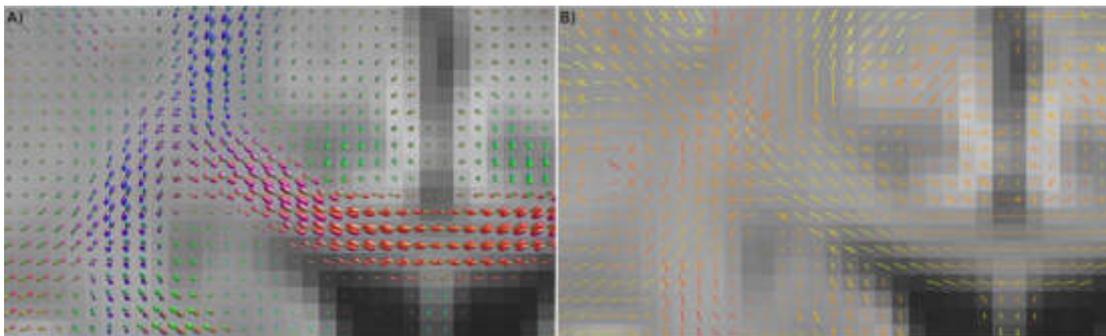


FIGURA 4.5: Panel izquierdo: lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos (SH) correspondientes a la imagen FOD plantilla coloreados según su orientación. Panel derecho: fíxeles obtenidos y seleccionados a partir de los lóbulos, coloreados según la amplitud del lóbulo originante (mayor amplitud del lóbulo, mayor intensidad del fíxel).

A continuación se aplicaron dos clases de **transformaciones espaciales**: cada imagen FOD individual fue registrada con la plantilla, y la plantilla fue registrada con cada imagen FOD de los sujetos. Estas transformaciones permitieron **calcular las métricas de microestructura de WM** en el espacio nativo de cada sujeto correspondientes a cada fíxel cuya contraparte estaba presente en la imagen FOD plantilla. De este modo, se obtiene un valor por métrica por fíxel para cada sujeto.

Por su parte, la segmentación de los lóbulos del desarrollo de armónicos esféricos en fíxeles es empleada no sólo para el cálculo de métricas sino también para la generación de *streamlines* que forman un tractograma. A partir de la imagen FOD plantilla se generó un **tractograma** de 20 millones de *streamlines* que después de la aplicación del algoritmo SIFT se filtraron a 5 millones. Luego, se construyó una matriz de conectividad de fíxeles para toda la muestra.

Por último, se compararon estadísticamente las medidas de FD, FC y FDC entre los dos grupos a través de un **Modelo General Lineal** y una posterior **prueba no paramétrica de permutaciones**. Cada modelo tomó como entrada los valores de una métrica por fíxel por sujeto y la matriz de conectividad, además de una matriz de diseño y otra de contraste. Para las correcciones múltiples, se ejecutaron 5000 permutaciones.

Los parámetros empleados del comando ejecutado (`fixelcfestats`) referidos a la conectividad de fíxeles fueron los de defecto. Finalmente, para facilitar la visualización de resultados se calculó para cada métrica el **tamaño de efecto porcentual** relativo a controles (como: $100 \times \text{media}_{CS} - \text{media}_{LOAD} / \text{media}_{CS}$), es decir se obtuvo un porcentaje de cambio de cada métrica respecto al grupo control.

Los principales comandos ejecutados fueron: `population.template`, `mrtransform`, `fod2fixel`, `fixelcorrespondence`, `fixelconnectivity` y `fixelcfestats`. Todo el análisis fue ejecutado haciendo uso del Centro de Computación de Alto Rendimiento (CeCAR) de la Facultad de Cs. Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Para más detalles acerca de las opciones y entradas para cada paso de esta metodología consultar la [documentación](#) de MRtrix. En el Apéndice A se muestra la Fig. A.1 adaptada del artículo de Raffelt y cols. [6] en la que se esquematiza la consecución de cada paso ejecutado dentro del FBA.

4.5. Procesamiento de fMRI

4.5.1. Principios básicos de fMRI

En el Capítulo 2, al presentar los alcances de la conectividad cerebral se introdujo brevemente el concepto de imágenes por resonancia magnética funcional (fMRI). En esta sección se darán más detalles para luego comprender el procesamiento de esta clase de imágenes.

Para describir y cuantificar una determinada función cerebral es necesario primero distinguir entre áreas activas y no activas. En particular, la técnica de fMRI explota las características magnéticas de la sangre y es sensible a los cambios en sus **niveles de oxígeno**, permitiendo esa distinción, a partir de lo que se conoce como señal dependiente del nivel de oxigenación de la sangre (BOLD). Resulta interesante destacar que la señal BOLD es la consecuencia de la demanda metabólica a partir de la actividad neuronal, no mide directamente dicha actividad, resultando en imágenes funcionales que reflejan un correlato con la actividad cerebral.

Los cambios temporales en la señal BOLD provocados por la actividad neuronal constituyen la función respuesta hemodinámica. Cualquier actividad neuronal provoca un aumento reflejo local en el flujo de sangre oxigenada y un consecuente incremento en la señal BOLD. Sin embargo, esta respuesta hemodinámica no es inmediata sino que comienza a distinguirse aproximadamente 2 segundos después de iniciado el evento que la origina. Además tarda otro par de segundos hasta alcanzar su altura máxima y alrededor de 15 a 20 segundos en volver a su estado original.

Por otra parte, la actividad neuronal basal, es decir aquella que no proviene de un evento o tarea particulares, conforma la mayor parte del funcionamiento cerebral. Esta actividad basal o **estado de reposo** también genera señal BOLD y su estudio constituye una pieza clave para entender el funcionamiento del cerebro. En esta Tesis se analizaron las imágenes funcionales en reposo con el fin de obtener matrices y mapas de conectividad funcional y establecer su contribución a la caracterización del cerebro en la muestra de Hijos de pacientes con O-LOAD. A continuación se detallan los pasos que constituyeron el preprocesado y procesado de las señales temporales de fMRI.

4.5.2. Preprocesamiento

A diferencia de las imágenes de difusión, las funcionales (incluyendo las de estado de reposo) contemplan una dependencia temporal: cada volumen adquirido tiene un tiempo inicial distinto por lo que brinda información del funcionamiento cerebral a partir de un momento determinado. Además, existen diversos modos de adquisición de los cortes que constituyen un volumen. En este caso, se adquirieron los cortes intercaladamente, es decir que primero se tomaron los cortes impares (desde el cuello hasta la porción más superior de la cabeza) y luego se repitió este barrido con los cortes pares. Como consecuencia, se tiene que dos cortes consecutivos no se corresponden a dos momentos consecutivos en la adquisición. Esta dependencia conduce a la necesidad de una **corrección temporal** que se realizó mediante una interpolación de los datos y constituyó el primer paso del preprocesado de las imágenes. Estableciendo un corte de referencia, esta interpolación dió como resultado que cada serie de tiempo tenga los valores que se habrían obtenido si el corte se hubiera adquirido en simultáneo al de referencia. En esta corrección se considera la señal medida como una combinación lineal de funciones sinusoidales, y se basa en agregarle una fase para generar el corrimiento temporal necesario.

Luego de la corrección temporal se siguió con el preprocesado espacial. Se comenzó con un **realineado** cuyo fin es subsanar el movimiento del sujeto ocurrido durante la adquisición, al igual que sucede con las imágenes de difusión. Esta etapa consiste en el cálculo de tres parámetros de movimiento de traslación y tres de rotación respecto a una referencia, para cada volumen de cada sujeto. A continuación se aplicó sobre la imagen original estos parámetros mediante una transformación de cuerpo rígido, con el fin corregir los movimientos. Existen al menos dos posibles escenarios: uno en el cual los movimientos de cabeza son involuntarios y sutiles, y alcanza con aplicar la transformación lineal para corregirlos; y otro en el cual el rango del movimiento es mayor que la longitud de un lado del vóxel. Este último caso es más problemático, ya que rompe con la correspondencia espacial de un vóxel volumen a volumen, y requiere de otras medidas, como el cálculo de valores intermedios o la remoción de los datos con estos artefactos.

En este trabajo se estimaron los parámetros del realineado empleando interpolación mediante *splines*, se los inspeccionó y aplicó. En ningún caso se identificaron movimientos que demanden alguna de las medidas extremas mencionadas.

El segundo paso del preprocesado espacial es la **normalización**. En esta ocasión, se aplican transformaciones no lineales para trasladar todos los sujetos a un espacio estandarizado con características morfológicas comunes. En otras palabras, a diferencia del realineado que es una transformación intra-sujeto, la normalización es un procedimiento inter-sujetos y modifica en tamaño y forma las estructuras cerebrales de modo tal que sean espacialmente comparables a nivel grupal. Esta etapa de normalización suele ser conflictiva en muchos casos, especialmente cuando se trata con cerebros atrofiados o con patologías degenerativas, por lo que resulta fundamental que la imagen de referencia utilizada sea la adecuada para que la transformación sea correcta. En este caso se utilizó el espacio estandarizado MNI descrito por Talairach y Tournoux [86] y un mapa de referencia de tejidos segmentados implementado dentro de la herramienta SPM12. El método de interpolación aplicado fue trilineal. Todas las normalizaciones resultantes fueron inspeccionadas una a una buscando evitar deformaciones y futuras discordancias espaciales.

Por último, el último paso del preprocesado consistió en aplicar un *kernel* Gaussiano para suprimir ruido y artefactos residuales de las transformaciones espaciales empleadas en los pasos anteriores. Este **suavizado** se llevó a cabo con un *kernel* isotrópico de 8 mm de lado.

Todo el preprocesado fue llevado a cabo con la herramienta SPM12 del *software* Matlab R2017a en la Fig. 4.6 se presenta un esquema de esta etapa (panel B) y de los pasos siguientes (paneles C y D).

4.5.3. Filtros de frecuencia

Durante el tiempo de adquisición, la actividad neuronal es sólo uno de los procesos que transcurre y medirla es el objetivo principal de las secuencias de fMRI. Sin embargo, es posible que señales procedentes de otras actividades fisiológicas interfieran y se acoplen a la señal medida. Tal es el caso de la actividad cardíaca y la respiratoria, las cuales están caracterizadas por frecuencias mayores (con rangos de 1 Hz a 1.5 Hz y de 0.2 Hz a 0.3 Hz, respectivamente) a las típicas de la actividad neuronal en reposo cuya frecuencia es menor a 0.1 Hz [87]. Sin embargo, y debido al acoplamiento durante la adquisición, es fundamental filtrarlas debidamente durante su procesamiento (Fig. 4.6 panel C).

Otro tipo de artefacto presente en la señal BOLD es el aumento (o disminución) constante y sostenido de la señal debido a inestabilidades propias del resonador, como pueden ser el efecto térmico [88, 89]. Estos fenómenos ocurren a frecuencias mucho más

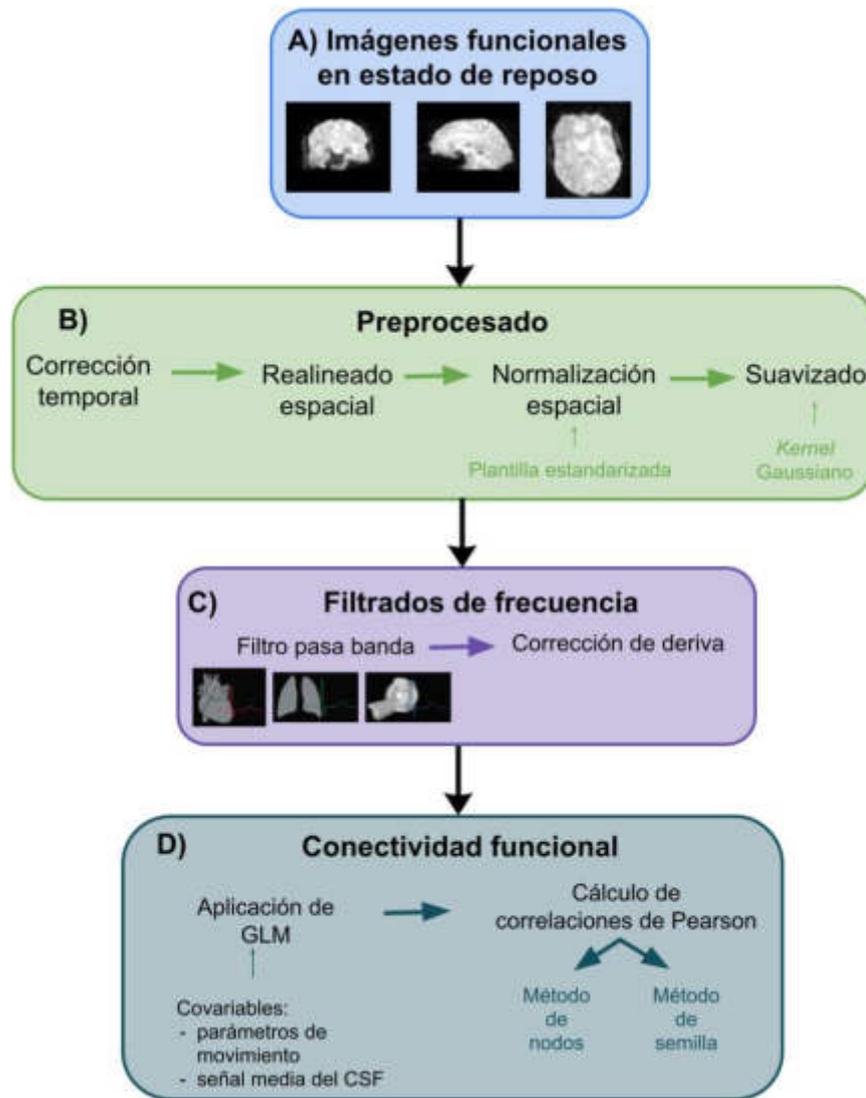


FIGURA 4.6: Etapas del procesamiento de las imágenes de funcionales una vez adquiridas (panel A) hasta la obtención de la conectividad mediante métodos de nodos o semilla (panel D), pasando por el preprocesado (panel B) y la aplicación de los filtros necesarios (panel C).

bajas (< 0.01 Hz) que la de interés pero que al acoplarse generan una deriva lineal que también debe removerse.

La herramienta REST (*RESting-state fMRI data analysis Toolkit*) [90] desarrollada para el procesamiento de imágenes funcionales, implementa dos algoritmos para filtrar los efectos mencionados anteriormente. El primero es un **filtro paso de banda**, el cual utiliza la transformada discreta de Fourier para pasar del espacio temporal al de frecuencias, eliminar las frecuencias correspondientes, y mediante la transformada inversa volver al dominio temporal. En este caso se filtraron todas las frecuencias por fuera del rango 0.01 Hz a 0.08 Hz. El segundo, estima la **deriva lineal** mediante un ajuste de cuadrados mínimos y la remueve de la señal medida.

4.5.4. Conectividad funcional

Como fue introducido en la Sección 2.4, la conectividad funcional (FC) se obtiene a partir de correlacionar dos señales temporales (Fig. 4.6 panel D). Es decir, el valor de conectividad funcional no es más que el coeficiente de **correlación de Pearson** (r) entre las señales BOLD de dos regiones del cerebro. La ecuación 4.1 exhibe la expresión matemática de la correlación lineal de Pearson entre dos señales x e y :

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}, \quad r_{xy} \in [-1, 1] \quad (4.1)$$

donde \bar{x} e \bar{y} son los valores medios de las series temporales x e y . Si el coeficiente r_{xy} toma valor absoluto 1, significa que las dos señales están completamente sincronizadas: si $r_{xy} = 1$ tiene una relación directa mientras que si $r_{xy} = -1$ representa una relación inversa. El caso de $r_{xy} = 0$ significa que no existe relación lineal entre ambas señales. Los valores intermedios expresan relaciones directas o inversas (según su signo) pero más débiles que en el caso de los extremos.

Este modelo de correlación de Pearson se puede aplicar en dos métodos diferentes para obtener la FC. El primero es el **método semilla** (conocido también como *voxel-wise*), en el cual se promedia la señal BOLD de todos los vóxeles que constituyen una región determinada definida como semilla, y se la correlaciona con la serie temporal de cada vóxel restante. Aplicando este método se obtuvieron los mapas de conectividad funcional que indican la sincronización (directa, inversa o su ausencia) de todo el cerebro respecto de la región semilla. En este caso con el objetivo de estudiar las áreas que se ven afectadas primeramente en la enfermedad de Alzheimer (AD) según estudios morfológicos *post-mortem* [51], se seleccionaron como regiones semillas las parcelas correspondientes a la corteza entorrinal¹ (EC) y al tálamo antero-dorsal² (TAD). A dichos mapas individuales se les aplicó una prueba estadística t por grupo para encontrar sus principales áreas de sincronización que lo caracteriza, y para otra prueba t de dos muestras con el fin de buscar diferencias significativas en la conectividad entre las dos poblaciones de estudio.

El segundo escenario, llamado **método de nodos** (o *ROI-wise*) implica correlacionar la señal media de todo par de regiones (obtenida a partir de promediar la señal proveniente de todos los vóxeles que las integran). Los resultados de esta técnica se almacenan en una matriz donde cada elemento es el coeficiente de correlación r de Pearson entre cada par de regiones (Fig. 4.6, panel D). A estas matrices se le pueden aplicar diversas herramientas estadísticas y matemáticas para su análisis y comparación.

Cualquiera de los mencionados sea el método aplicado, previo al cálculo de correlaciones se aplica un **Modelo General Lineal** (Ec. 4.2; Fig. 4.6, panel D) con el

¹Del atlas Desikan-Killiany.

²Del atlas Morel [91, 92].

fin de remover exhaustivamente artefactos. Es decir, si bien se aplicaron diversos filtros y correcciones en la etapa anterior, este preprocesado puede no ser acabado. Tal es el caso de los movimientos sutiles (aquellos menores al tamaño de un vóxel) de los sujetos [93], y de los ya mencionados efectos de inestabilidades propias del escáner que podrían afectar particularmente áreas con presencia de CSF o WM [94]. Con esta motivación, se incorporó como **covariables** en la matriz de diseño X del modelo los seis parámetros de movimiento (obtenidos durante el realineado) y la señal media obtenida del CSF [95]. A través de la utilización de una máscara de CSF obtenida a partir de la segmentación en tejidos de la imagen T1 de cada sujeto, se extrajo la señal temporal de las imágenes filtradas y preprocesadas, y se incorporó su promedio como covariable. De este modo, se obtuvieron los residuos (ϵ) y los parámetros β que mejor ajustaron las covariables (X) con la señal medida de cada vóxel (Y) de la ecuación 4.2.

$$Y = X\beta + \epsilon. \quad (4.2)$$

4.6. Acoplamiento de conectividades cerebrales

Como fue presentado en la Sección 2.4.2, en esta Tesis también se buscó introducir el concepto de acoplamiento de conectividad cerebral explorando la posible **asociación** entre SC y FC en el grupo de interés O-LOAD y compararla con la análoga para el grupo control CS.

El acoplamiento de conectividades tiene dos contribuciones: la anatómica que viene dada por los conectomas estructurales umbralizados obtenidos en la Sección 4.4.4, y la funcional dada por las matrices de correlación de Pearson obtenidas con el método de nodos (Sección 4.5.4). El primer filtro aplicado tuvo como objetivo resaltar el **rol restrictivo** de la SC (Sección 2.4.2), por lo que para cada sujeto se mantuvo en su matriz de FC únicamente los pares de regiones que presentaron una conexión estructural [96]. De este modo, todos los elementos de las matrices de FC que no tuviesen una contraparte estructural, fueron reemplazados por cero. A continuación, se aplicó la **transformación de Fisher** para pasar del coeficiente de correlación r al valor z de Fisher [97].

Con las matrices mencionadas anteriormente se calculó el acoplamiento a través de correlaciones de Spearman (definiéndolo como el coeficiente de correlación) en tres escalas:

- **Por sujeto:** para un mismo sujeto se tomaron todos los valores de la matriz de SC y todos los correspondientes a la matriz de FC, y se los correlacionó obteniéndose un valor de acoplamiento. De este modo, se obtuvo un vector con los valores de acoplamiento de 21 elementos para el grupo O-LOAD y otro de 22 elementos para el grupo CS (Fig. 4.7).

- Por región:** dada que la naturaleza de las matrices de SC y FC es diferente³, para lograr un acoplamiento por región fue necesario computar de manera diferente la contribución estructural y funcional. Para la SC, se sumaron todos los *streamlines* generados a partir y hacia cada región, obteniéndose un vector por sujeto. Para la FC, se promediaron los valores de z de Fisher de cada región, obteniéndose también un vector por sujeto. Luego se correlacionaron los valores de SC y FC por región de los sujetos controles y de los sujetos del grupo O-LOAD separadamente, generando un vector de 84 elementos por grupo (Fig. 4.8).
- Por par de conexión:** en este caso se estudió el acoplamiento a una escala más pequeña. Se tomaron los valores de todos los sujetos de cada par de interacción y se calculó la correlación entre SC y FC (Fig. 4.9) para cada grupo. Se obtuvo un vector de 3486 elementos por grupo.

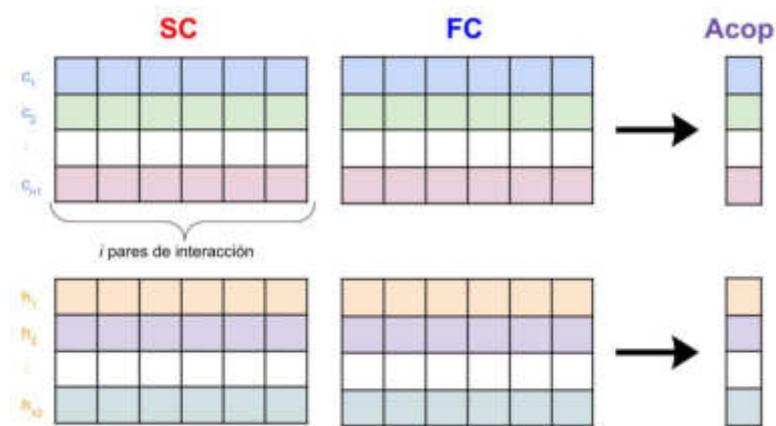


FIGURA 4.7: Acoplamiento por sujeto. Cada sujeto control está notado como c_i y sujetos del grupo O-LOAD h_i . La cantidad de sujetos controles es n_1 , la de sujetos del grupo O-LOAD es n_2 , i es la cantidad total de pares de conexión. Se obtuvo un vector por grupo de tantos elementos como sujetos en el grupo.

En las Figs. 4.7, 4.8 y 4.9, se presentan esquemas que ilustran el modo en que se calculó el acoplamiento en cada nivel de estudio. En cada figura, las tablas representan matrices con valores de conectividad estructural o funcional. En cada caso, los colores de cada fila o columna señalan el modo en que se calculó la correlación.

En cada uno de los tres niveles se estudiaron dos aspectos: el primero fue inter-grupo, en el cual se buscaron diferencias significativas (mediante una prueba U de Mann-Whitney) en la distribución de los coeficientes de acoplamiento obtenidos para el grupo O-LOAD y para el CS. El segundo aspecto fue intra-grupo: haciendo uso de que cada coeficiente de acoplamiento tiene asociado un valor de p , se aplicaron correcciones de hipótesis múltiples (ver Sección 4.7) por grupo para seleccionar únicamente aquellas instancias (dependiendo del nivel que se esté explorando estas instancias fueron regiones

³La SC es la acumulación de los *streamlines* generados durante la tractografía y la FC es la sincronización entre la actividad de regiones caracterizada por una medida con un rango de valores definido (r de Pearson).

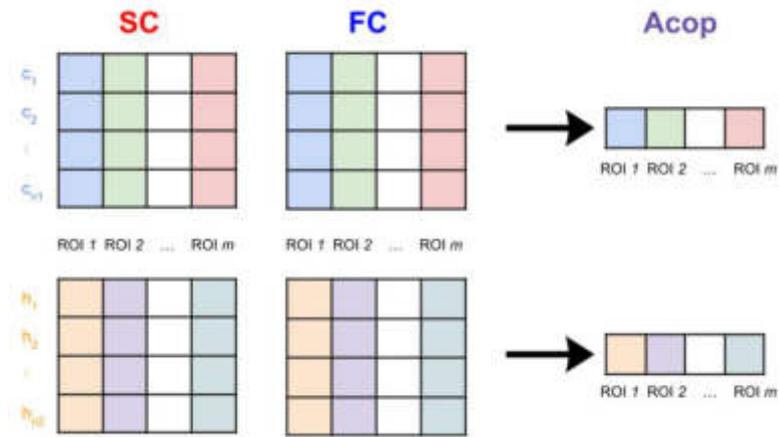


FIGURA 4.8: *Acoplamiento por región de GM. Para cada sujeto se utilizaron valores colapsados de SC (suma de streamlines por región) y FC (promedio de z de Fisher por región). Dentro de cada grupo, se correlacionaron todos los valores colapsados de cada región de SC con los de FC.*

de GM o pares de conexión) con significancia estadística ($p \leq 0.05$). Lo interesante de este aspecto es que en cada grupo se pudieron identificar regiones o pares de conexión con acoplamiento significativo, y así evaluar cuáles estuvieron ausentes (o no) en el grupo O-LOAD.

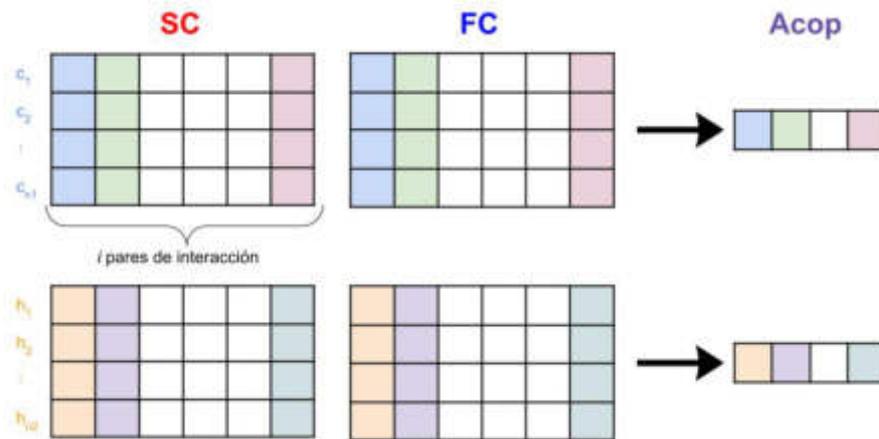


FIGURA 4.9: *Acoplamiento por par de conexión. Se toman los valores de SC y FC para cada par de regiones de todos los sujetos de cada grupo y se los correlaciona.*

4.7. Comparaciones estadísticas

Con el objetivo de lograr un procesamiento riguroso y resultados que reflejen la naturaleza de los datos originales, se han aplicado diversas técnicas estadísticas. En primer lugar, se empleó la **prueba no paramétrica** para muestras independientes U de Mann-Whitney a través del comando `ranksum` de Matlab R2017a. En los casos en los que se compararon diversas métricas o **múltiples hipótesis** de una misma métrica,

se corrigieron los valores de p obtenidos mediante la estimación de la tasa de falsos positivos con el procedimiento de Benjamini-Hochberg (FDR-BH, [98]) con la función `fdr_bh`. Únicamente se aplicó t -test paramétrico en los casos en que las variables de estudio cumplen las hipótesis necesarias.

En el mismo sentido, para estudiar las posibles asociaciones entre métricas de interés, se ejecutaron correlaciones de Spearman (o de Pearson según las características de la muestra) seguidas por correcciones a través del método FDR-BH cuando corresponda.

4.8. Más asociaciones: medidas cognitivas y métricas de GM

En el Capítulo 3 se explicó cómo esta Tesis surge en el marco de un proyecto más amplio en el cual se estudió mediante diversos métodos la misma muestra de sujetos O-LOAD. Para tener una mirada global y conjunta, en esta sección se exploran posibles asociaciones entre los resultados de esta Tesis y de los demás métodos investigados. Para esto se calcularon correlaciones (de Spearman o Pearson según corresponda en cada caso) del siguiente modo:

1. Entre métricas de microestructura de WM y morfológicas de GM (volumetría y espesor cortical),
2. entre métricas de microestructura de WM y aquellas obtenidas de imágenes PET (PET-PiB y PET-FDG),
3. entre métricas de microestructura de WM y variables cognitivas,
4. entre valores de FC de pares de regiones específicamente seleccionadas por su importancia con AD⁴ y variables cognitivas.

El desarrollo las metodologías mencionadas en esta Sección no pertenecen al plan de trabajo de la presente Tesis, sino que son parte de colaboraciones con otras tesis doctorales. Sin embargo, resulta interesante desde la perspectiva de la enfermedad incluir las asociaciones encontradas entre los resultados de estas metodologías y las técnicas aplicadas propiamente para esta Tesis. Las herramientas aplicadas para obtener dichas asociaciones sí forman parte de esta Tesis.

Se dará a continuación una descripción de la evaluación cognitiva administrada y de las métricas obtenidas a partir de imágenes PET y T1, si se desea se puede recurrir a los trabajos publicados [74, 99, 100] para más detalle.

⁴Aquí se utilizaron regiones de tres atlas diferentes: Desikan-Killiany, Morel, y Etiquetado Anatómico Automatizado (AAL).

4.8.1. Evaluación cognitiva

A fin de verificar que todos los participantes fueran cognitivamente asintomáticos se administró una batería neuropsicológica comprehensiva para evaluar su desempeño cognitivo. Esta evaluación fue llevada a cabo por una neuropsicóloga ciega al grupo experimental de los participantes en una sesión de 90 minutos aproximadamente en la que se emplearon tareas de uso frecuente en la práctica clínica y ampliamente validadas por la comunidad especialista. El rendimiento neuropsicológico de los individuos se encontraba dentro de los límites normales en todas las tareas administradas según las normas locales.

- **Mini Mental State Examination (MMSE)** [71]: se administró como una medida de rastillaje del funcionamiento cognitivo y fue incorporado para determinar uno de los criterios de inclusión. Mayor puntaje representa un mejor desempeño cognitivo.
- **Inventario de depresión de Beck (BDI II)** [101]: se administró para detectar presencia y severidad de los síntomas depresivos reportados que podrían impactar en el desempeño cognitivo. Puntajes elevados reflejan sintomatología más severa.
- **Fluencia semántica (categoría animales)** [102]: se utilizó para evaluar la memoria semántica o “el conocimiento de las palabras”. Puntajes elevados representan un mejor desempeño.
- **Fluencia fonológica (letra P)** [102]: es una medida de la productividad verbal. Puntajes elevados representan un mejor desempeño.
- **Escala de interferencia semántica y aprendizaje de Loewenstein-Acevedo (LASSI-L)** [103]: las tareas de esta evaluación actúan sobre la interferencia semántica y son más sensibles a cambios tempranos en la AD antes que las pruebas cognitivas tradicionales pudieran objetivar deterioro cognitivo. Además evalúa los efectos de la interferencia semántica proactiva (PSI) y retroactiva (RSI) así como el fracaso para recuperarse de la PSI (frPSI) tras instancias de aprendizaje controlado y recuerdo diferido con facilitación semántica de dos listas de palabras diferentes pero que comparten las mismas categorías semánticas [104]. Más detalles sobre la administración de esta escala se encuentra en el Apéndice A.

4.8.2. Métricas corticales y subcorticales de imágenes T1

Teniendo la imagen de contraste T1 parcelada según lo expuesto en la Sección 4.3, y mediante la ejecución del comando `aparcstats2table` se obtuvo el **volumen** y el **espesor** de las regiones corticales de GM, mientras que mediante el comando

`asegstats2table` se obtuvo el volumen de las regiones subcorticales. En ambos casos se implementó una **normalización** del volumen total intracraneal con el objetivo de comparar las métricas obtenidas para cada región en cada sujeto.

4.8.3. Métricas derivadas de imágenes PET

Como fue presentado en la Sección 3.3.1 existen tres biomarcadores implementados en imágenes de PET capaces de detectar cambios neuropatológicos debidos a la AD. Dos de ellos fueron incorporados al proyecto global que estudia la muestra de O-LOAD: el compuesto ^{11}C -PiB y el ^{18}F -FDG. A través de la técnica de imágenes PET es posible medir la actividad metabólica detectando la radiación emitida por los **radiofármacos** inyectados en el sujeto.

Las imágenes PET fueron procesadas en conjunto con las imágenes de contraste T1 de MRI y luego se realizó un análisis específico mediante comandos implementados en el *software* PETSurfer. Este análisis constó de los siguientes pasos:

1. Segmentación en tejidos utilizada para corregir los efectos de volumen parcial generados por distorsiones debidas a la baja resolución del *scanner* empleado, a través de métodos de corrección parcial de volumen [105],
2. co-registración de imágenes PET y contraste T1,
3. corrección de volumen parcial de todas las regiones cerebrales tomando como referencia la protuberancia o puente, una porción anatómica del tronco del encéfalo particularmente resistente a la atrofia cerebral y tomada por tanto como región de referencia, y los volúmenes de los valores corregidos de los vóxeles a nivel cortical y subcortical,
4. análisis de superficie para trasladar las correcciones aplicadas a las superficies de la imagen de cada sujeto individual.

Como resultado de este procesamiento se obtuvo para cada región de GM la **acumulación** de los radiofármacos mencionados que responden a un mayor metabolismo cerebral. En el Apéndice A se detallan la adquisición de las imágenes PET y el modo en que se obtuvieron los compuestos químicos necesarios.

En el siguiente capítulo se presentan los hallazgos para cada una de las técnicas aplicadas.

Capítulo 5

Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos a partir de la metodología detallada en el Capítulo 4. El capítulo se ordena del siguiente modo: la primera sección muestra las imágenes intermedias que se obtuvieron durante el procesamiento de los datos de dMRI, la segunda los hallazgos en materia de conectividad estructural, la tercera los resultados del estudio de sustancia blanca. A continuación se presentan las imágenes intermedias y los resultados obtenidos de los datos de fMRI. Por último, se exhiben los hallazgos durante el acoplamiento de la conectividad estructural con la funcional. Cada sección se compone por resultados demográficos, resultados propios de cada método aplicado y hallazgos en las asociaciones con otras variables de interés.

5.1. Imágenes intermedias del procesamiento de dMRI

Como fue explicado en el capítulo anterior, el procesamiento de las imágenes de difusión consta de diversos pasos y cada uno de ellos está destinado a ejecutar un nivel distinto de complejidad en la preparación de las imágenes que llevan a la construcción final de los tractos. Para esta sección se ha seleccionado un sujeto de toda la muestra y se presentan las imágenes intermedias más destacadas obtenidas durante dicho procesamiento.

En la Fig. 5.1 se muestra el filtrado del ruido y la corrección del *bias field*, dos de las cuatro instancias de la etapa del preprocesado.

La siguiente etapa se focalizó en la obtención de la función distribución de orientaciones de fibras por vóxel. Como primera imagen resultante se obtuvo un subconjunto de vóxeles pertenecientes a los tres tejidos biológicos, a partir de los cuales se estimó la función respuesta (RF): en rojo se colorean los vóxeles ubicados en áreas de líquido cefalorraquídeo, en azul los vóxeles de áreas de sustancia blanca, y en verde los correspondientes a sustancia gris (panel izquierdo Fig. 5.2). En el panel derecho se muestra

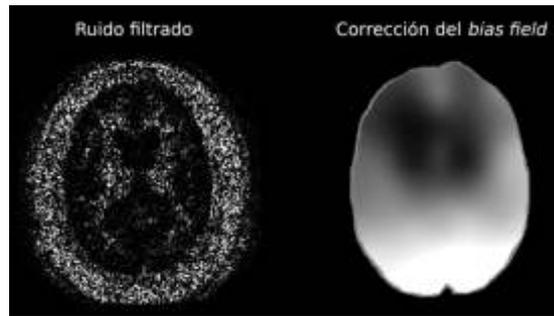


FIGURA 5.1: Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) extracción de ruido y (derecha) corrección de las inhomogeneidades del campo aplicado.

el desarrollo de armónicos esféricos para cada vóxel, el cual describe la distribución de orientación de fibras. En este caso los colores señalan la dirección principal de cada orientación, siendo la convención: izquierda \leftrightarrow derecha en rojo, anterior \leftrightarrow posterior en verde, y superior \leftrightarrow inferior en azul.

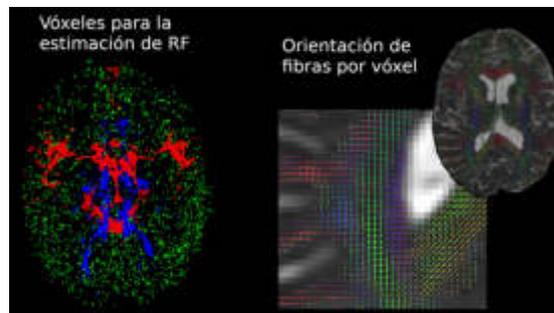


FIGURA 5.2: Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) función respuesta por tejido: CSF en rojo, WM en azul, GM en verde. (Derecha) Distribución de orientación de fibras por vóxel: izquierda \leftrightarrow derecha en rojo, anterior \leftrightarrow posterior en verde, y superior \leftrightarrow inferior en azul.

La Fig. 5.3 muestra una imagen que colapsa la segmentación por tejidos (panel izquierdo) incorporada para restringir según la anatomía cerebral el proceso de tractografía probabilística ejecutado. En el panel derecho se presenta el tractograma obtenido. Nuevamente los *streamlines* están coloreados según su dirección siguiendo la misma convención que la orientación de fibras.

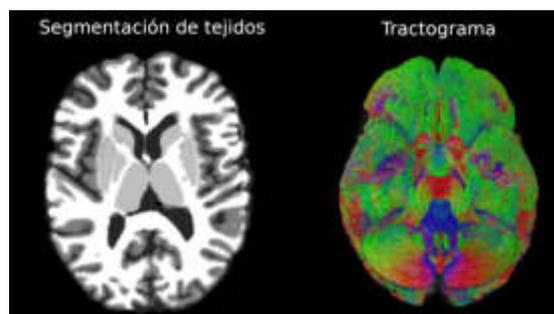


FIGURA 5.3: Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. (Izquierda) segmentación de tejidos cerebrales. (Derecha) Tractograma final.

Para estudiar la conectividad estructural, a partir del tractograma y de la parcelación en regiones de la sustancia gris se obtuvo una matriz donde cada elemento es el número de *streamlines* generados en el proceso de tractografía. Esta matriz guarda las conexiones generadas entre cada par de regiones de sustancia gris, es cuadrada, simétrica y pesada, y su representación gráfica es el conectoma estructural (Fig. 5.4). Dado que la parcelación utilizada tiene 84 regiones, las matrices son de 84×84 elementos.



FIGURA 5.4: *Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. Matriz de conectividad estructural y su representación gráfica mediante un conectoma.*

Por último, en la Fig. 5.5 se presentan los mapas de fracción de anisotropía (FA) y difusividad media (MD) empleados posteriormente para el estudio de la microestructura de sustancia blanca.

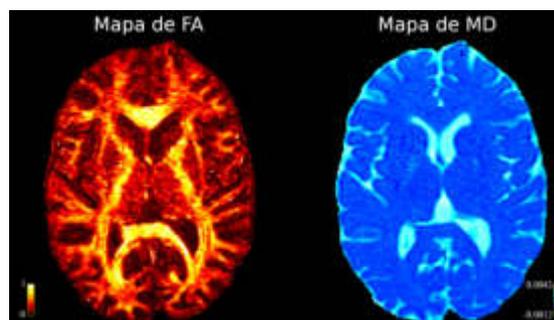


FIGURA 5.5: *Imágenes intermedias del procesamiento de datos dMRI. Mapas de fracción de anisotropía (izquierda) y de difusividad media (derecha).*

5.2. Conectividad estructural y teoría de grafos

Para el estudio de la conectividad estructural (SC) se incluyeron 23 sujetos en el grupo O-LOAD y 22 sujetos sin antecedentes de ninguna enfermedad neurodegenerativa (grupo CS). En la Tabla 5.1 se presentan las características demográficas, donde los grupos resultaron similares en términos de edad, género, años de educación formal, coeficiente intelectual (IQ) estimado y el examen cognitivo que evalúa fluencia semántica. Todos los participantes eran cognitivamente asintomáticos y su rendimiento neurocognitivo se encontraba dentro de los límites normales.

	Grupo CS (n = 22)	Grupo O-LOAD (n = 23)	Estadístico	p valor
Número de Mujeres	18	15	1.585	0.208
Edad (años)	51.91 ± 6.46	54.91 ± 5.37	-1.693	0.100
Años de Educación	17.68 ± 2.44	17.70 ± 3.34	-0.016	0.987
IQ Estimado	107.80 ± 5.91	106.72 ± 5.43	0.633	0.530
Fluencia Semántica	22.05 ± 4.85	20.74 ± 3.79	0.990	0.328

TABLA 5.1: Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de conectividad estructural. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2 , mientras que para las variables numéricas se utilizó *t-test*.

Siguiendo el método descrito en la Sección 4.4.4 se obtuvo un conectoma estructural por sujeto, y se los promedió por grupo. Sobre el conectoma promedio de cada grupo se aplicó la definición de conexión (\mathcal{C}) para el conjunto de umbrales \mathcal{U} . De este modo se obtuvo un conectoma promedio por cada umbral (20 en total) por grupo y, sobre cada uno de ellos se evaluaron sus características de redes de mundo pequeño a través de las métricas γ , λ y σ . En la Fig. 5.6 se exhibe cómo cambian estas tres métricas de grafos conforme se modifica el umbral u . Además, en la figura se observa cómo a partir del umbral 300 ya no se obtienen valores para λ y σ . Esto se debe a que al cálculo de λ contribuye la longitud de trayectoria (*path length*) de conectomas aleatorios de características similares al de estudio y, dicha métrica, arroja un resultado infinito. En otras palabras, a partir de umbrales mayores a 300 los conectomas estructurales dejan de comportarse como redes de mundo pequeño y se asemejan a redes aleatorias. Con este motivo y además habiendo evaluado los valores de las tres métricas ($\gamma \gg 1$, $\lambda \sim 1$, $\sigma > 1$) para $u \leq 300$, se seleccionó el umbral de 300 como la cantidad de *streamlines* necesarias para considerar la existencia de una conexión entre dos regiones tanto en el grupo control como en el O-LOAD.

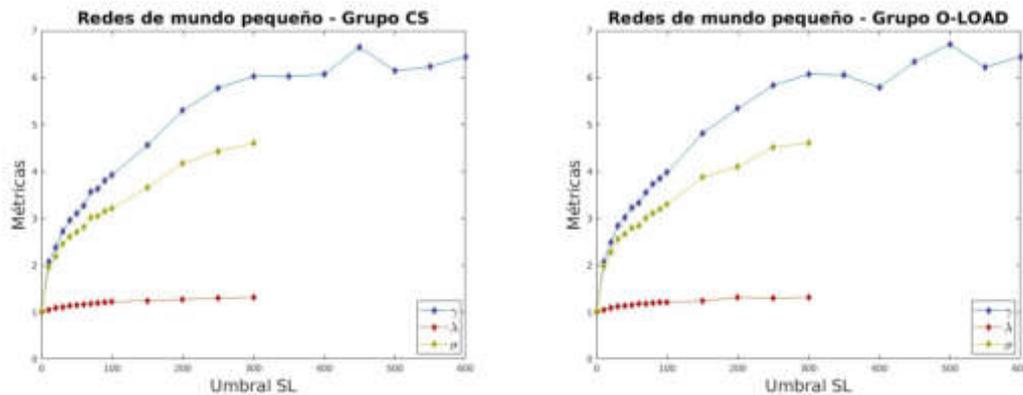


FIGURA 5.6: Comportamiento de métricas de redes de mundo pequeño según el umbral aplicado en los conectomas estructurales promedios por grupo.

En la Fig. 5.7 se muestra en los conectomas cómo disminuye la cantidad de enlaces según aumenta el valor de umbralización. Observando los paneles superior e inferior, se

evidencia a simple vista la similitud en el comportamiento de ambos grupos. Por último, una vez eliminadas las conexiones que no contaban con al menos 300 *streamlines*, se tomó cada par de conexión restante y se comparó las distribuciones de cada grupo. Si bien 29 pares de conexión (de un total de 3486) parecían ser diferentes entre grupos, ninguno de ellos mantuvo un valor de $p < 0.05$ luego de aplicar correcciones múltiples.

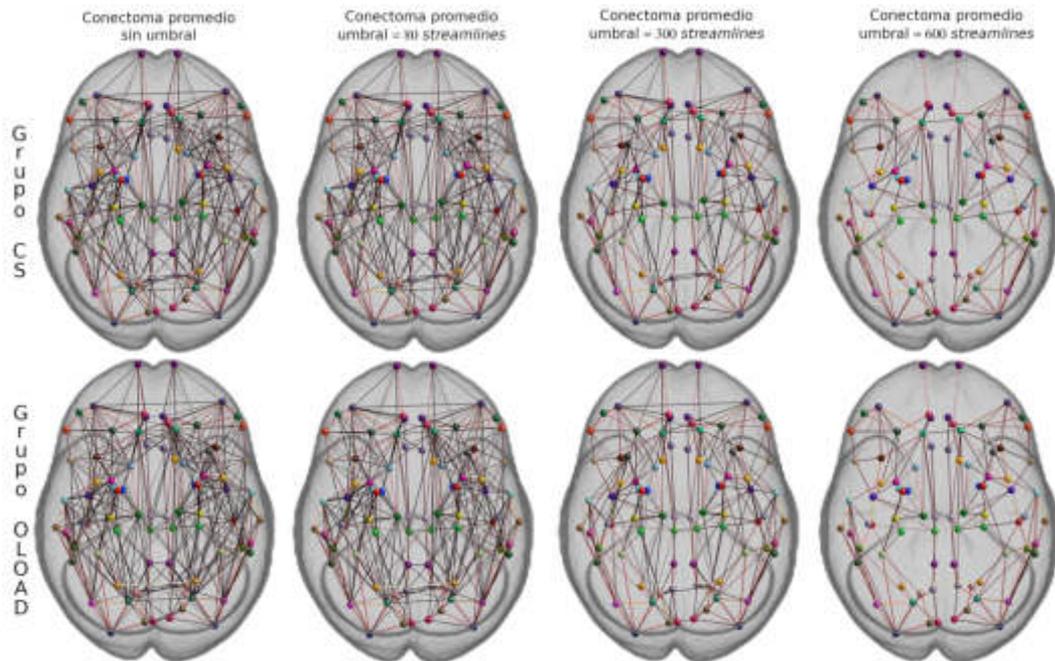


FIGURA 5.7: Conectomas estructurales promedio por grupo: sin umbralizar y con umbrales de 80, 300 y 600 *streamlines*. En el panel superior se ubican los conectomas del grupo control y en el inferior los del grupo O-LOAD.

Métricas	Grupo CS (n = 22)	Grupo O-LOAD (n = 21)
Mundo pequeño (comportamiento global)		
γ	6.03	6.07
λ	1.31	1.32
σ	4.60	4.60
Grafos (comportamiento individual)		
Nodos	84	84
Enlaces	486 ± 69	482 ± 50
Densidad de enlaces	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.01
Eficiencia Global	563 ± 54	535 ± 43

TABLA 5.2: Métricas de redes de mundo pequeño calculadas sobre un conectoma promedio por grupo y métricas topológicas generales calculadas sobre los conectomas de cada individuo.

Por último, se calcularon métricas de grafos de ambos grupos (Tabla 5.2). Nuevamente los grupos presentaron comportamientos similares en términos de redes, es decir

no se hallaron diferencias significativas en ninguna de las métricas que describen su topología y transmisión de la información a través de sus conexiones. Además de las métricas de la Tabla 5.2, se evaluó el coeficiente de agrupamiento y la eficiencia de cada región, los cuales tampoco arrojaron diferencias entre grupos.

5.3. Microestructura de sustancia blanca

A partir de la información de la orientación de fibras por vóxel y de los mapas de fracción de anisotropía (FA) y difusividad media (MD), se analizó la microestructura de la sustancia blanca (WM). Este análisis es paralelo al estudio de la conectividad estructural a través de los conectomas obtenidos de algoritmos de tractografía. A continuación se detallan los hallazgos, los mismos se encuentran publicados en [106].

5.3.1. Resultados demográficos

La microestructura de la sustancia blanca (WM) se estudió sobre la misma muestra de sujetos que la conectividad estructural, por lo que las características demográficas son las presentadas en la Tabla 5.1.

5.3.2. Resultados principales

Luego de ejecutar el análisis basado en fíxeles (FBA) se ha encontrado una región de WM que presenta diferencias significativas entre los grupos O-LOAD y CS en la densidad de fibras (FD). Específicamente, el grupo O-LOAD presenta una reducción de esta métrica (referida al volumen intra-axonal) respecto al grupo CS en el tracto que comprende la región posterior del Cuerpo Caloso y el fórnix derecho. En la Fig. 5.8 se presenta el tracto con FD reducida en el grupo O-LOAD, y en su panel derecho se muestra el mismo coloreado según la dirección de las *streamlines* que lo componen (manteniendo la convención: rojo, izquierda ↔ derecha; verde, anterior ↔ posterior; azul, inferior ↔ superior). No se han encontrado diferencias estadísticas para las otras dos métricas (sección transversal de fibras y densidad de fibras en sección transversal) resultantes del FBA.

Con el objetivo de cuantificar la reducción hallada en el grupo O-LOAD, se calculó el efecto porcentual de reducción respecto al grupo CS. En promedio la región definida por el tracto de la Fig. 5.8 se caracteriza por presentar una reducción de FD del 20 % en el grupo O-LOAD. Sin embargo, explotando las bondades del método FBA se encuentran fíxeles con reducción en un rango entre el 4 % y el 50 % respecto del grupo control (Fig. 5.9).

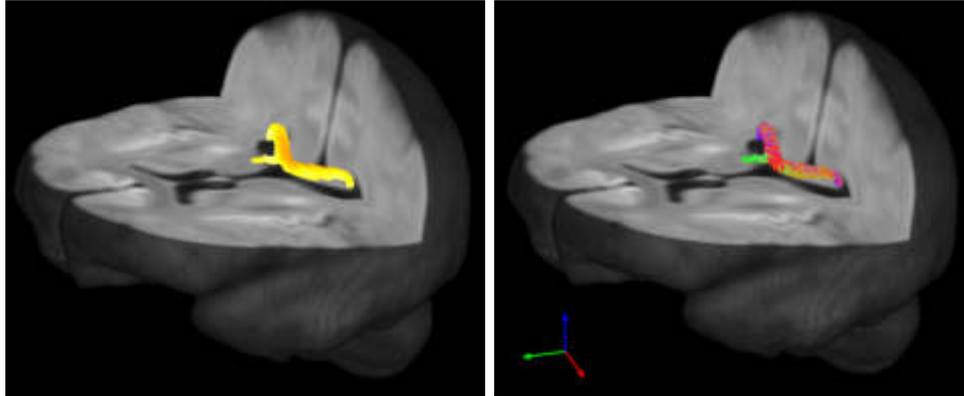


FIGURA 5.8: Se muestra el tracto de WM que presenta menor densidad de fibras en el grupo O-LOAD respecto al grupo CS. En el panel derecho se presenta el mismo coloreado según la orientación de streamlines presentes. En ambos casos el tracto se superpone sobre una imagen estructural plantilla obtenida a partir de la muestra total.

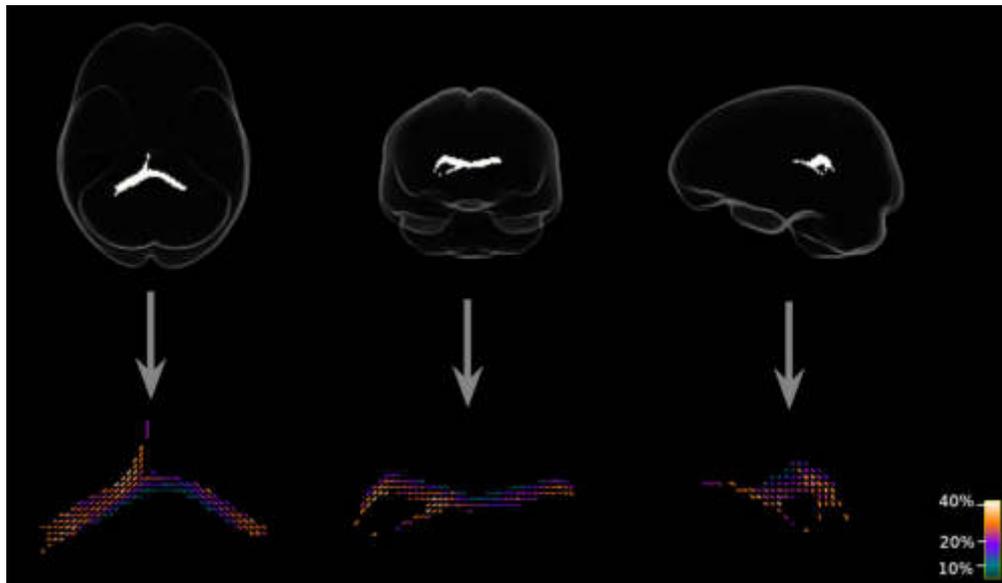


FIGURA 5.9: Se muestra el tracto resultante del análisis FBA coloreado por el porcentaje de reducción de FD en el grupo O-LOAD en sus tres vistas. Dicha reducción compone un rango del 4 % al 50 % respecto al grupo CS.

Utilizando el tracto presentado en la Fig. 5.8 como área de interés, se calculó allí el valor medio de la fracción de anisotropía y difusividad media de cada sujeto. Para la primera de las métricas se obtuvo $FA_{CS} = (0.4552 \pm 0.08847)$ y $FA_{OLOAD} = (0.3687 \pm 0.09870)$, mientras que para la segunda se obtuvo $MD_{CS} = (1.743 \times 10^{-3} \pm 3.658 \times 10^{-4})$ y $MD_{OLOAD} = (2.114 \times 10^{-3} \pm 3.908 \times 10^{-4})$. Mediante una prueba U de Mann-Whitney se encontró que también estas métricas presentan diferencias significativas entre los grupos de estudio con los siguientes valores de p : $p_{FA} = 0.004700$ y $p_{MD} = 0.004075$. En la Fig. 5.10 se muestran dichos resultados, en color celeste para el caso del grupo CS y en color naranja para el grupo O-LOAD.

Por último, se exploró la relación entre las tres métricas de microestructura de

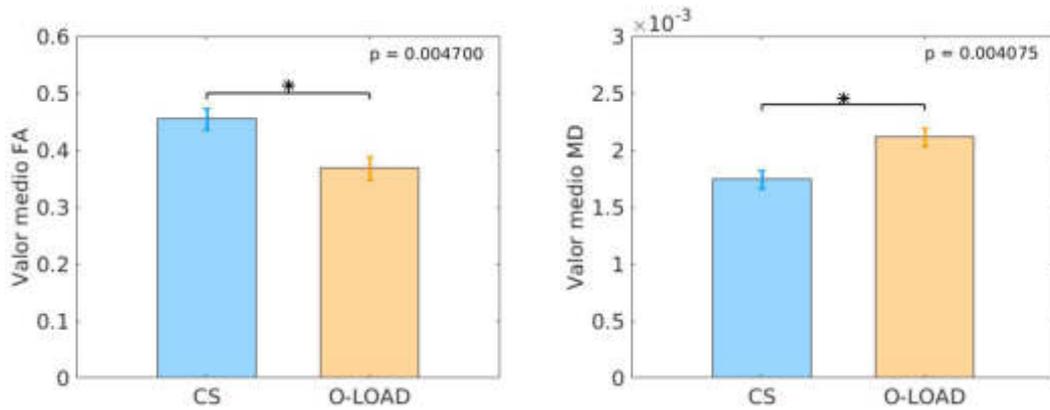


FIGURA 5.10: Valor medio de las métricas FA (izquierda) y MD (derecha) calculadas en el tracto de interés definido en la Fig. 5.8 para cada sujeto. El error graficado es el desvío estándar. En ambas métricas se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. (* $p < 0.05$).

WM. En el grupo CS se encontró una correlación positiva y significativa entre los valores de FA y FD ($r = 0.6906$, $p = 5.3 \times 10^{-4}$) y una correlación negativa y significativa entre MD y FD ($r = -0.7007$, $p = 4.1 \times 10^{-4}$). Para el grupo O-LOAD se mantuvieron los signos de las correlaciones (aunque de menor magnitud) pero no resultaron significativas estadísticamente. El coeficiente de correlación entre FA y FD es $r = 0.3972$ con $p = 0.6155$, y para MD y FD se obtuvo $r = -0.3024$ con $p = 0.1606$. Tal como se esperaba, la relación entre FA y FD resultó positiva para ambos grupos (Fig. 5.11, panel izquierdo) mientras que para MD y FD negativa (Fig. 5.11, panel derecho).

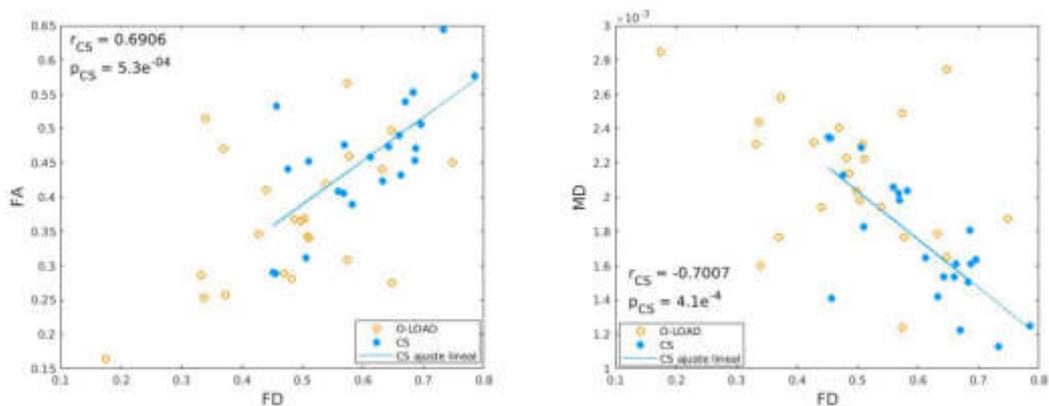


FIGURA 5.11: Distribución de los valores de las métricas de WM. Izquierda: relación entre FA y FD; derecha: relación entre MD y FD. Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$) en algún grupo, se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.

5.3.3. Asociaciones con otras variables cognitivas y morfológicas de GM

Teniendo el tracto definido por el FBA, se extrajeron del tractograma global los *streamlines* que lo componen y, a partir de ellos, se buscaron las regiones de GM que son conectadas mediante el tracto. De este conjunto de regiones de GM, se seleccionaron únicamente aquellas entendidas y conocidas como las más y primeras afectadas por la AD. De este modo, se estudiaron las áreas que podrían verse afectadas por la deficiencia en el tracto de WM que las conecta. La Fig. 5.12 muestra estas regiones a través de un conectoma estructural, en el cual se incluyen áreas corticales (circunvoluciones bilaterales superior temporal y superior parietal, precuneos bilaterales, circunvoluciones izquierdas orbital frontal medial y temporal medio) y subcorticales (ínsula, hipocampo y tálamo derechos). En el Apéndice B se encuentra el listado completo de las regiones que integran la parcelación cerebral con su nombre completo y su abreviatura.

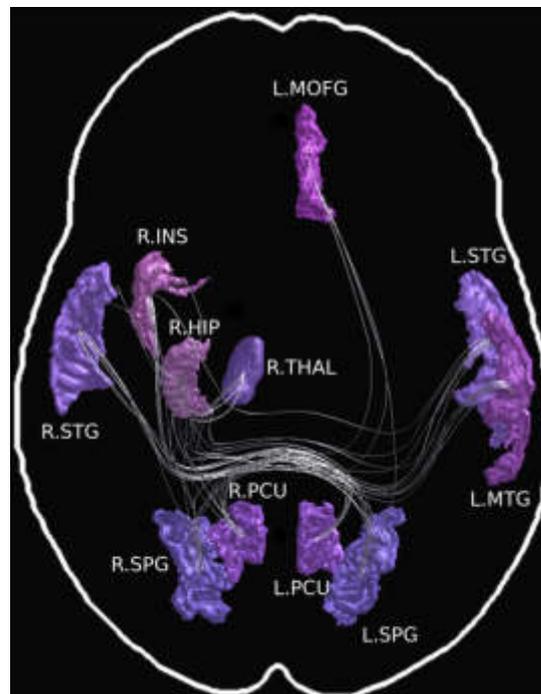


FIGURA 5.12: *Conectoma estructural construido a partir de las conexiones involucradas en el tracto de interés de la Fig. 5.8. Para simplificar la imagen, se presenta un único streamline por conexión.*

Habiendo identificado estas regiones de GM, se exploraron las asociaciones mencionadas en la Sección 4.8 mediante correlaciones de Spearman. En las Fig. 5.13 y 5.14 se grafica la relación entre las métricas de integridad de WM (FA, MD y FD) del tracto de interés con métricas morfológicas de GM (volumetría y espesor cortical) y medidas de PET (PiB y FDG) de estas regiones de GM seleccionadas. Para cada asociación se presentan el coeficiente de correlación y el p valor asociado. Además cuando el $p < 0.05$, se muestra un ajuste lineal. Estos resultados se presentan sólo a modo exploratorio y con

el fin de motivar futuros estudios ya que ninguno de ellos se mantiene luego de aplicar técnicas de correcciones múltiples.

Para el grupo CS, se encontró mayor FD asociada con mayor depósito de β -amiloide (PET-PiB) (Fig. 5.13, panel A) y mayor volumen (Fig. 5.13, panel B) en el tálamo derecho y el circunvolución superior parietal bilateral. Los depósitos de β -amiloide del tálamo derecho son también asociados a FA aumentada (Fig. 5.14, panel B, gráfico izquierdo) y MD disminuida (Fig. 5.14, panel A, gráfico del medio) en el tracto de interés. Por último, se encontró correlación positiva entre FA y el volumen de la circunvolución superior parietal derecha (Fig. 5.14, panel B, gráfico derecho).

Por su parte, en el grupo O-LOAD, se encontró correlación positiva entre FD y depósitos de β -amiloide en el hipocampo derecho (Fig. 5.13, panel A, gráfico derecho) y correlación negativa con el espesor cortical del precúneo izquierdo (Fig. 5.13, panel C, gráfico derecho). Por último, la MD también presenta correlación negativa con el espesor cortical de la circunvolución superior temporal derecha (Fig. 5.14, panel A, gráfico derecho).

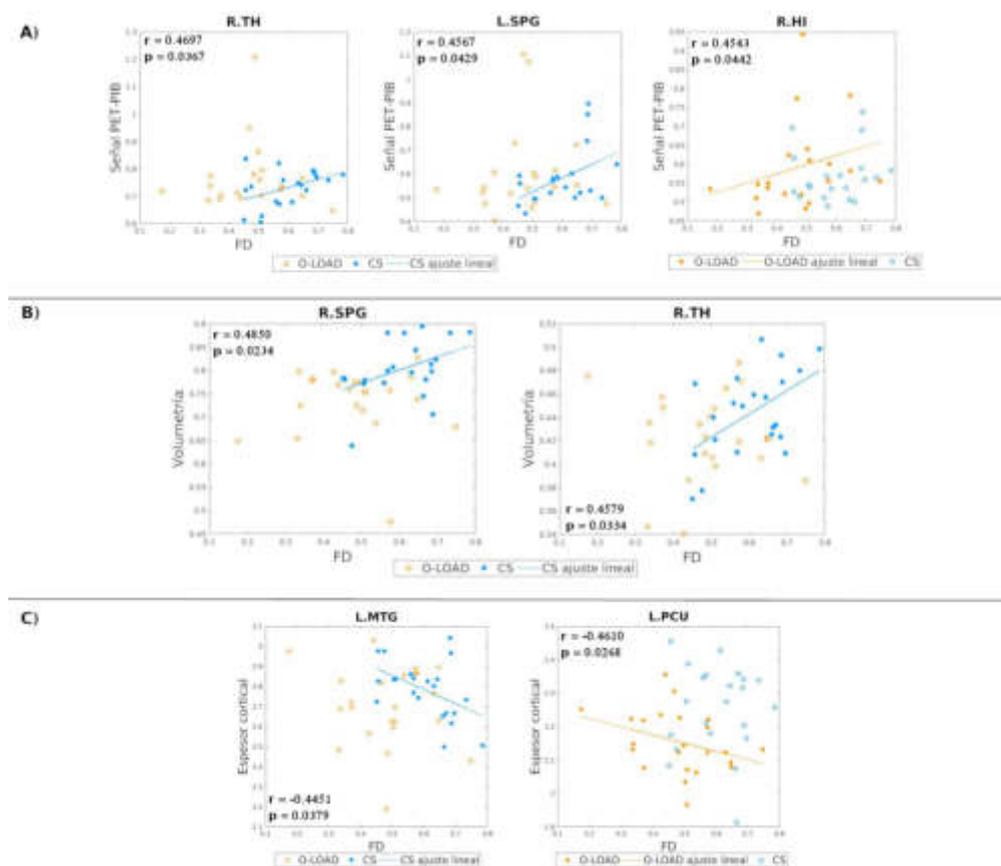


FIGURA 5.13: Cada gráfico muestra la distribución de PET-PiB (panel A), volumetría (panel B) o espesor cortical (panel C) para regiones de GM versus FD del tracto de interés en el grupo CS (círculos azules vacíos) y el grupo O-LOAD (círculos vacíos naranjas). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.

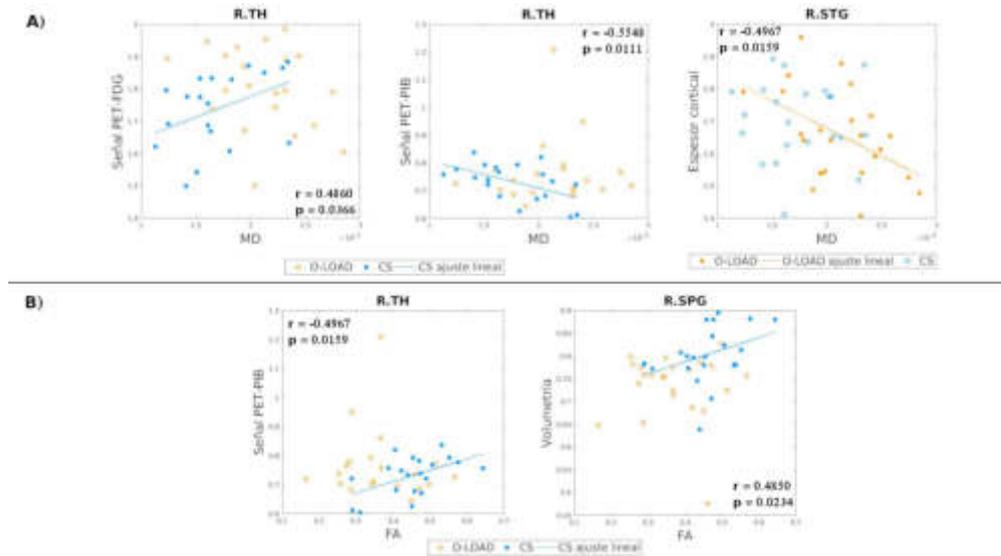


FIGURA 5.14: Cada gráfico muestra la distribución de PET-PiB, volumetría o espesor cortical para regiones de GM versus MD (panel A) y FA (panel B) del tracto de interés en el grupo CS (círculos azules vacíos) y el grupo O-LOAD (círculos vacíos naranjas). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.

Respecto a variables cognitivas, la FA del tracto de interés correlaciona negativa y significativamente con el rendimiento en la fluencia semántica de los sujetos del grupo O-LOAD ($r = -0.4251$, $p = 0.04320$; Fig. 5.15 panel izquierdo), por su parte, en la FD se encuentra una tendencia a un comportamiento similar ($r = -0.4097$, $p = 0.05220$; Fig. 5.15 panel derecho). En el caso de MD, se obtuvieron los siguientes valores: para el grupo control $r = 0.0479$, $p = 0.8365$; y para el grupo O-LOAD $r = 0.2962$, $p = 0.1700$. No se reportan asociaciones estadísticamente relevantes en el grupo CS ni con otras variables cognitivas.

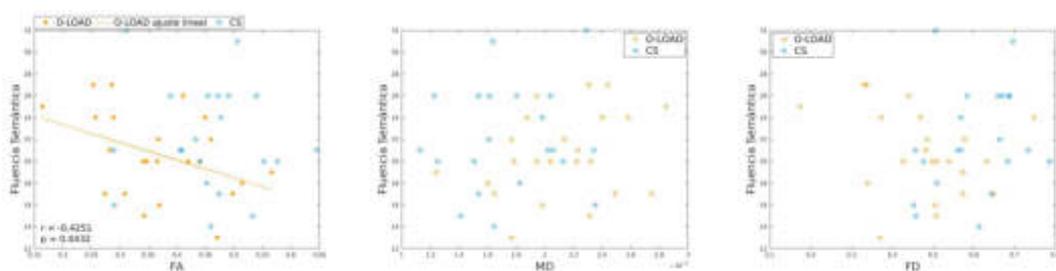


FIGURA 5.15: Cada gráfico muestra la relación entre los valores de la fluencia semántica con las métricas de WM del tracto de interés: FA (izquierda), MD (medio), y FD (derecha). Cuando la correlación de Spearman resultó significativa ($p < 0.05$), se agrega un ajuste lineal y los círculos son rellenos.

5.4. Imágenes intermedias del procesamiento de fMRI

Al igual que para las imágenes de difusión, es esta sección se muestra un ejemplo de las imágenes más relevantes obtenidas durante el procesamiento de los datos de fMRI.

Siguiendo los métodos presentados en la Sección 4.5.4, uno de los primeros pasos del preprocesamiento de las imágenes funcionales es calcular y corregir los movimientos involuntarios de los sujetos durante la adquisición. En la Fig. 5.16 se muestran los tres regresores de traslación (uno por cada dirección de movimiento) en el panel superior y en el inferior los tres rotacionales (uno por cada ángulo de Euler).

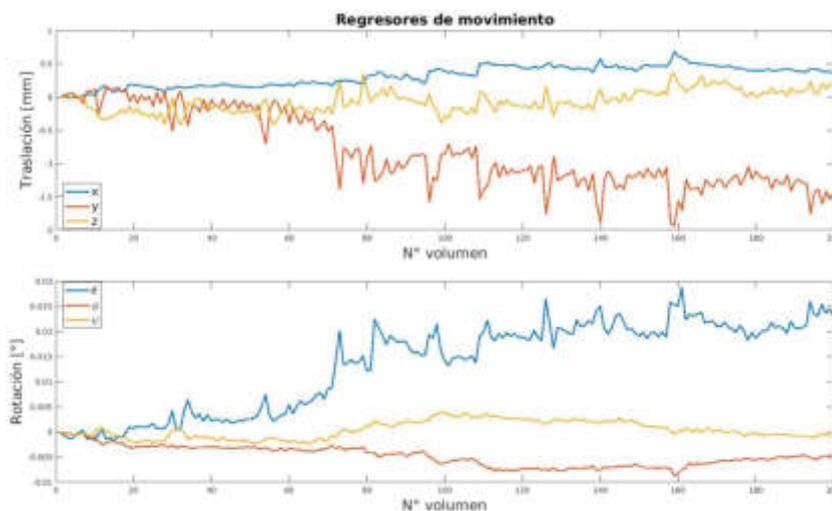


FIGURA 5.16: Regresores de movimiento: (superior) uno por cada dirección de traslación (x , y , z); (inferior) ángulo de inclinación (θ), ángulo de alabeo (ϕ), y ángulo de deriva (ψ).

Luego, se presentan una imagen normalizada espacialmente la cual se llevó a cabo empleando como referencia una imagen segmentada en tejidos (Fig. 5.17, panel izquierdo). Como último paso del pre-procesamiento, se presenta en el panel derecho una imagen suavizada mediante un *kernel* Gaussiano isotrópico de 8 mm de lado.



FIGURA 5.17: (Izquierda) Imagen normalizada utilizando una imagen de referencia. (Derecha) Imagen suavizada mediante un kernel gaussiano.

Por último, y luego de aplicar las últimas correcciones de frecuencias y derivas presentes en la señal temporal, se obtuvieron los mapas de conectividad funcional (FC) ejecutando el método semilla con la corteza entorrinal y el tálamo antero-dorsal (Fig. 5.18, izquierda), y las matrices de FC a través del método de nodos (Fig. 5.18, derecha). Esta última se construyó nuevamente con la parcelación del atlas de Desikan-Killiany, por lo que su dimensión es 84×84 .

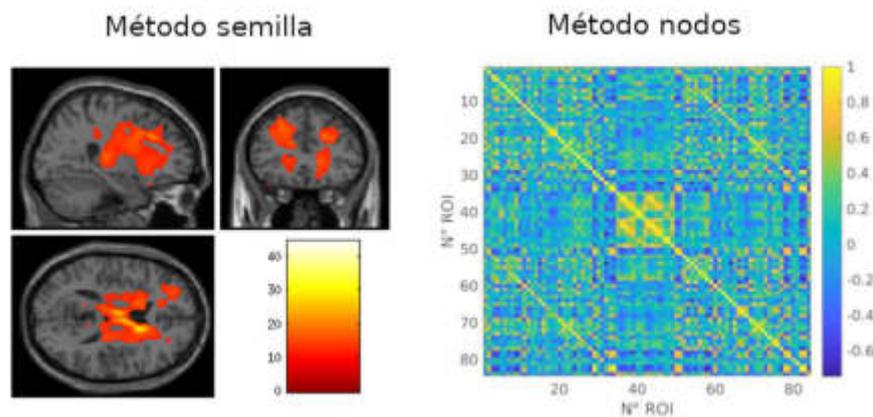


FIGURA 5.18: (Izquierda) Ejemplo de mapa de conectividad funcional obtenido a partir de método semilla, utilizando la región tálamo antero-dorsal izquierdo. (Derecha) Ejemplo de matriz de conectividad funcional a partir de método nodos, empleando la parcelación del atlas de Desikan-Killiany.

5.5. Conectividad funcional en estado de reposo

En esta sección se presentan los resultados obtenidos en materia de conectividad funcional (FC) en estado de reposo. A partir de la aplicación del método semilla, se reportan los mapas de FC de la corteza entorrinal (EC) y el tálamo antero-dorsal (TAD). Luego, se muestran asociaciones entre la FC de pares de regiones relevantes para la enfermedad de Alzheimer y puntajes de pruebas cognitivas. Todos estos hallazgos se encuentran publicados en [107].

5.5.1. Resultados demográficos

En este estudio de conectividad funcional y variables cognitivas fueron incluidos 21 sujetos del grupo O-LOAD y 20 individuos controles. La Tabla 5.3 presenta las características clínicas, demográficas y cognitivas de la muestra y exhibe las equivalencias estadísticas de los grupos en términos de género, edad, años de educación y síntomas depresivos reportados.

Desde el punto de vista cognitivo, los sujetos del grupo O-LOAD tuvieron un peor desempeño. Los mismos exhibieron menor desempeño en el recuerdo diferido de

estímulos de la lista *A* del LASSI-L y mayor cantidad de intrusiones (errores) durante el recuerdo diferido combinado de la lista *A* y la lista *B*. A su vez, este grupo presentó mayor cantidad de errores de intrusión durante el recuerdo facilitado de los ensayos *1B* y *2B*, lo cual sugiere dificultades en la interferencia semántica proactiva (PSI) y en el fracaso para recuperarse de la misma (frPSI).

	Grupo CS (n = 20)	Grupo O-LOAD (n = 21)	Estadístico	p valor
Número de Mujeres	16	13	1.620	0.203
Edad (años)	51.8 ± 8.7	54.9 ± 7.3	-1.216	0.232
Años de Educación	17.7 ± 3.20	17.50 ± 3.50	-0.203	0.841
Pruebas cognitivas				
BDI II	8.18 ± 8.02	9.22 ± 5.82	-0.440	0.664
Fluencia Semántica	22.05 ± 4.85	20.74 ± 3.79	0.990	0.328
Fluencia Fonológica	18.83 ± 3.37	18.33 ± 3.86	0.432	0.668
LASSI-L				
2A Rdo. facilitado	14.11 ± 1.05	13.67 ± 1.11	1.284	0.207
1B Rdo. facilitado	8.05 ± 3.10	7.48 ± 2.46	0.647	0.522
1B Int. facilitado	0.79 ± 0.98	2.19 ± 2.58	-2.311	0.029
2B Rdo. facilitado	12.21 ± 1.78	11.33 ± 1.49	1.677	0.102
2B Int. facilitado	0.58 ± 0.51	1.62 ± 1.63	-2.784	0.010*
Lista A diferido	12.16 ± 1.61	10.52 ± 2.56	2.440	0.020*
Total Rdo. diferido	22.05 ± 3.15	20.19 ± 3.57	-3.054	0.088
Intrusiones diferido	0.21 ± 0.42	0.76 ± 0.70	-3.504	0.004*

Tabla 5.3: Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de conectividad funcional obtenida con el método semilla. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2 , mientras que para las variables numéricas se utilizó *t*-test. Rdo = recuerdo; Int = intrusiones. Los valores *p* que superaron la corrección por comparaciones múltiples de FDR se marcan con (*).

5.5.2. Resultados principales

En primer lugar se presentan los mapas de FC en estado de reposo asociados a la corteza entorrinal. El grupo control presentó una marcada conectividad entre estas regiones bilateralmente (es decir la EC izquierda con su contraparte derecha), así como también con estructuras del lóbulo temporal (circunvolución fusiforme y parahipocampus bilaterales), el cíngulo posterior, y regiones subcorticales (ínsula e hipocampo bilaterales). Por su parte, el grupo O-LOAD exhibió alta sincronización entre las ECs. En la Fig. 5.19 se presentan seis cortes axiales en su vista superior, que muestran la FC por grupo de estudio y por región.

En términos generales y comparando los patrones de cada grupo (por región), la FC a partir de la EC izquierda y derecha fue mayor en el grupo control. En la Fig. 5.20 se muestran las áreas con diferencias estadísticas ($p < 0.001$) halladas entre el grupo

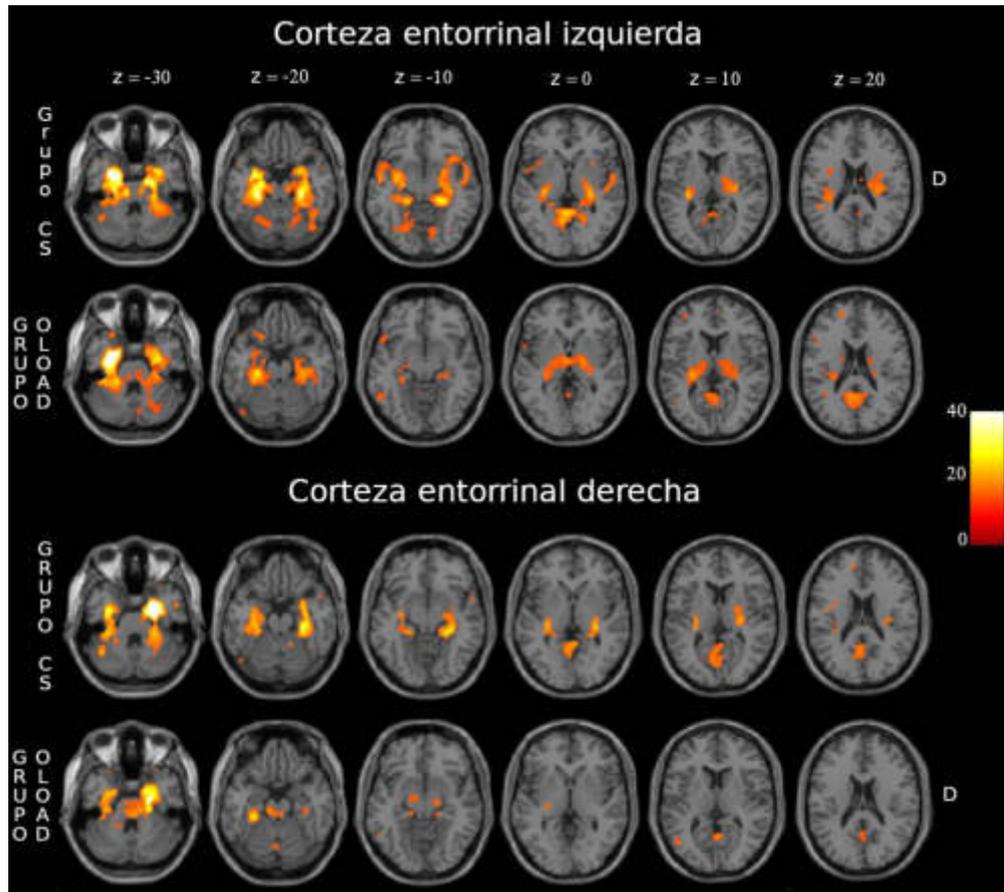


FIGURA 5.19: Mapas de conectividad funcional obtenidos con el método semilla a partir de corteza entorrinal izquierda (panel superior) y derecha (panel inferior) para ambos grupos ($p < 2 \times 10^{-12}$). Los planos axiales se muestran en su vista superior (D = derecha). Las coordenadas son en espacio MNI.

control y el grupo O-LOAD, pudiéndose mencionar la corteza del cíngulo anterior y la circunvolución orbitofrontal medial.

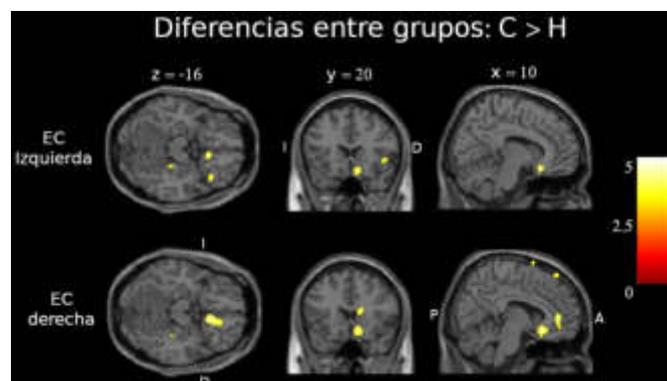


FIGURA 5.20: Diferencias en los patrones de FC entre grupos en la corteza entorrinal (EC) izquierda (panel superior) y derecha (panel inferior) ($p < 0.001$). Las coordenadas son en espacio MNI. D = derecha, I = izquierda, A = anterior, P = posterior.

Respecto al tálamo antero-dorsal, si bien en el grupo O-LOAD se observa áreas más reducidas que en el grupo CS, ambos presentaron mapas de FC similares. Estos

mapas involucran estructuras del cíngulo y límbicas (como el hipotálamo, la ínsula, el hipocampo y el parahipocampo), así como también su región homóloga (es decir, sincronización entre el TAD izquierdo y el derecho). La Fig. 5.21 exhibe estos patrones de conectividad para cada región para cada grupo. Debido a la gran similitud entre los mapas de ambos grupos, no se hallan diferencias estadísticamente relevantes ($p < 0.001$).

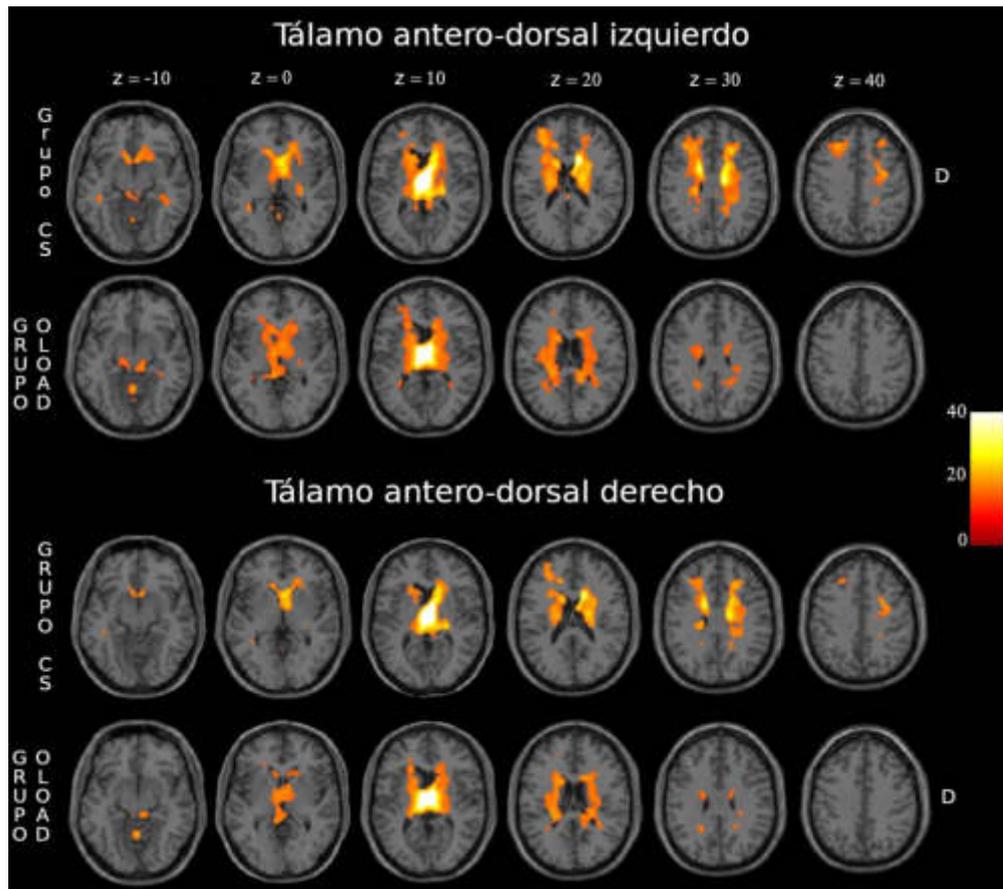


FIGURA 5.21: Mapas de conectividad funcional obtenidos con el método semilla a partir del tálamo antero-dorsal izquierdo (panel superior) y derecho (panel inferior) para ambos grupos ($p < 3 \times 10^{-12}$). Los planos axiales se muestran en su vista superior ($D =$ derecha). Las coordenadas son en espacio MNI.

5.5.3. Asociaciones con variables de la evaluación LASSI-L

Para esta sección se emplearon las matrices de FC obtenidas por el método nodos. Nuevamente, también aquí se seleccionaron del total de pares de conexión aquellos que podrían ver afectado su funcionamiento, según la degeneración que causa la AD. Además, estos pares de conexión seleccionados siempre involucran o bien la EC o bien el TAD. Luego, se exploraron las asociaciones entre estos pares de regiones conectadas funcionalmente y variables cognitivas de la prueba LASSI-L, aplicando correlaciones de Pearson.

La Fig. 5.22 consta de 2 paneles (A y B) con tres cerebros en su vista coronal donde se presentan los pares de conexión cuya correlación entre FC y los puntajes de LASSI-L resultó significativa. Tal es el caso del recuerdo facilitado 2B que correlacionó negativamente con el par EC e ínsula derechas en el grupo control ($r = -0.491$, $p = 0.033$; Fig. 5.22 A), mientras que en el grupo O-LOAD lo hizo con el par TAD derecho y cíngulo posterior ($r = -0.445$, $p = 0.043$; Fig. 5.22 B izquierda). Por su parte, las intrusiones (es decir, los errores) durante el recuerdo facilitado de la lista 2B se mostraron únicamente en el grupo O-LOAD en diversos pares de conexión que involucran áreas como EC, TAD, precúneo, ínsula, entre otras (ver Tabla 5.4 y Fig. 5.22, panel B derecho). Por último, al controlar por edad y reserva cognitiva, se obtuvieron correlaciones negativas entre intrusiones en el recuerdo diferido de la lista 2B y la FC de EC izquierda con hipocampo derecho ($r = -0.555$, $p = 0.014$), y la circunvolución frontal medial derecha ($r = -0.478$, $p = 0.038$).

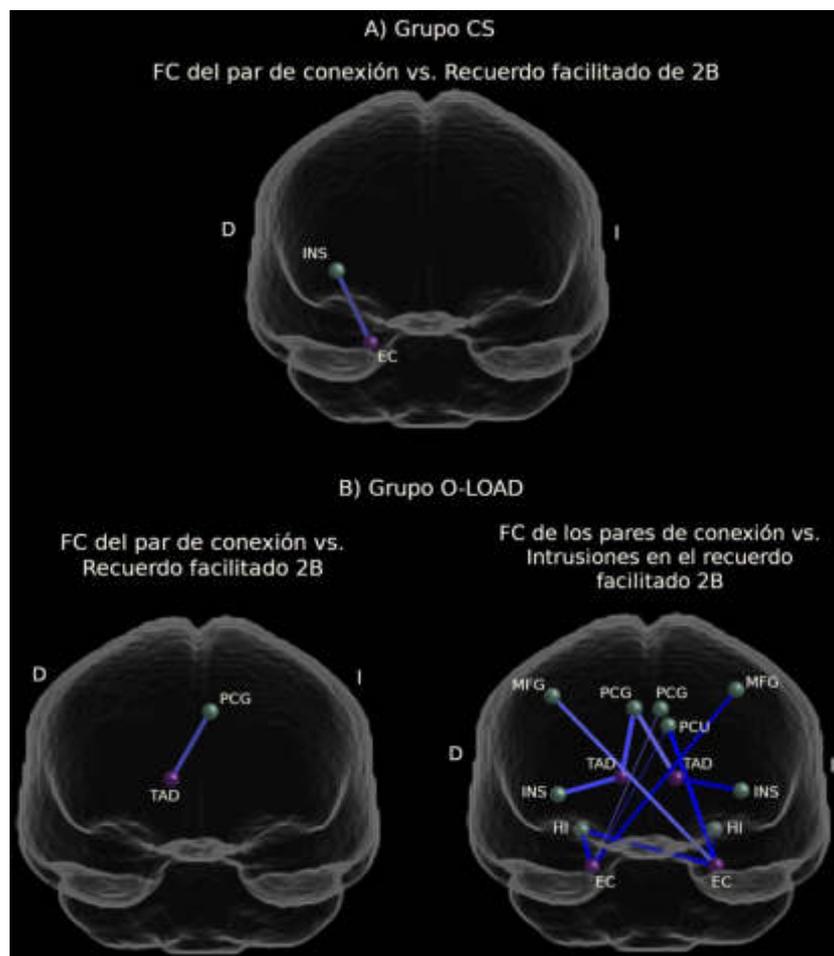


FIGURA 5.22: Vista coronal antero-posterior con las asociaciones entre la FC de pares de interacción de regiones de interés con tareas de la prueba LASSI-L en el grupo CS (Panel A) y en el grupo O-LOAD (Panel B). Todas las correlaciones son negativas (enlaces azules), y el espesor de los enlaces indican su magnitud. Los nodos verdes pertenecen a regiones del atlas AAL. La EC pertenece al atlas Desikan-Killiany y el TAD al Morel Thalamus Atlas.

Par de conexión	r	p
R.EC - L.PCG	-0.447	0.042
R.EC - R.HI	-0.544	0.011
R.EC - L.PCU	-0.432	0.050
R.EC - L.MFG	-0.477	0.029
L.EC - L.HI	-0.440	0.046
L.EC - R.HI	-0.598	0.040
L.EC - L.PCU	-0.471	0.031
L.EC - R.MFG	-0.511	0.018

Par de conexión	r	p
R.TAD - R.PCG	-0.446	0.043
R.TAD - L.INS	-0.508	0.019
R.TAD - R.INS	-0.512	0.018
L.TAD - R.PCG	-0.480	0.028
L.TAD - L.INS	-0.575	0.006
L.TAD - R.INS	-0.434	0.050

TABLA 5.4: Pares de conexión cuya conectividad funcional correlacionó con las intrusiones del recuerdo facilitado 2B de la prueba LASSI-L en el grupo O-LOAD. Los valores p no están corregidos. Además estas conexiones se grafican en el panel B de la Fig. 5.22.

5.6. Acoplamiento de conectividades

Esta última sección presenta los resultados de la exploración de métricas que podrían describir el acoplamiento entre la conectividad estructural (SC) y la conectividad funcional (FC).

5.6.1. Resultados demográficos

En este estudio fueron incluidos 21 sujetos del grupo O-LOAD y 22 sujetos controles. En la Tabla 5.5 se presentan las características clínicas y demográficas de este sub-conjunto de participantes que, debido a su gran superposición con la muestra del análisis de microestructura de WM, muestran similitudes en términos de género, edad y años de educación.

	Grupo CS (n = 22)	Grupo O-LOAD (n = 21)	Estadístico	p valor
Número de Mujeres	18	14	1.296	0.255
Edad (años)	51.91 \pm 6.45	55.09 \pm 5.56	-1.730	0.101
Años de Educación	17.68 \pm 2.44	17.81 \pm 3.47	-0.0140	0.889
IQ Estimado	107.80 \pm 5.91	106.72 \pm 5.43	0.633	0.530

TABLA 5.5: Tabla con datos clínicos y demográficos de la muestra utilizada para el análisis de acoplamiento SC-FC. Para variables categóricas se aplicó un test de χ^2 , mientras que para las variables numéricas se utilizó t -test.

5.6.2. Resultados principales

Para cada sujeto se empleó su contribución estructural, dada por el conectoma estructural umbralizado (Sección 5.2), y su contraparte funcional, dada por las matrices

de z de Fisher obtenidas a partir de las correlaciones de Pearson. En esta etapa se utilizó la parcelación de 84 regiones del atlas Desikan-Killiany para describir tanto la conectividad estructural como la funcional.

Como ya fue detallado anteriormente, la métrica de acoplamiento fue definida como el coeficiente de correlación de Spearman calculado en tres escalas diferentes: por sujeto, por región de GM, y por par de conexión. Debido a esta definición es que además se cuenta con un valor de p asociado. Esto permitió explorar el comportamiento intra-grupo de los acoplamientos SC-FC en la escala de regiones y de pares de conexión, es decir explorar si algún coeficiente de acoplamiento tiene asociado un valor de p particularmente significativo ($p < 0.05$ luego de aplicar la corrección FDR-HB) y ver si ese comportamiento se repite en el otro grupo de sujetos.

La primera escala fue a nivel **sujeto**, es decir, se caracterizó el acoplamiento de conectividades de cada individuo. Al comparar entre grupos los acoplamientos obtenidos no se hallaron diferencias estadísticas ($p = 0.8554$). En otras palabras, en esta exploración global los grupos tuvieron comportamientos similares en cuanto al acoplamiento SC-FC. Los valores medios de acoplamiento por grupo fueron $ACOP_{CS}^{suj} = (0.6954 \pm 0.1430)$ y $ACOP_{OLOAD}^{suj} = (0.6722 \pm 0.1794)$. En el panel izquierdo de la Fig. 5.23 se muestra mediante un gráfico de cajas la distribución de coeficientes por grupo. En el panel derecho de la misma figura, se presenta a modo de ejemplo los valores de SC vs. FC para un sujeto control (celeste) y un sujeto del grupo O-LOAD (naranja).

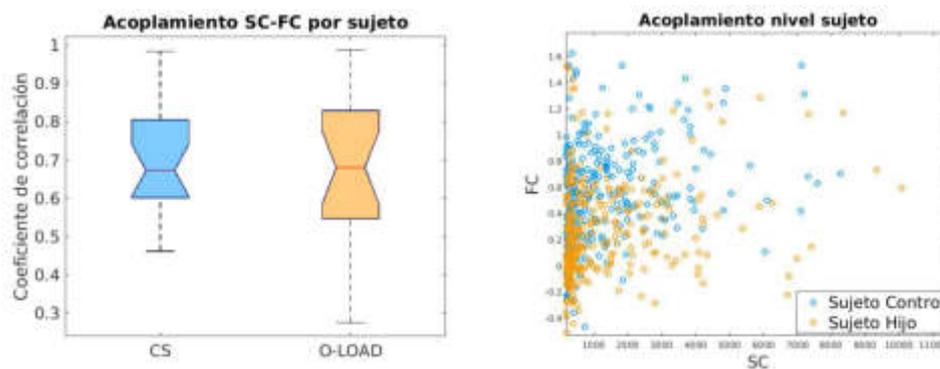


FIGURA 5.23: Izquierda: gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC calculados en la escala por sujeto. Derecha: SC vs. FC para un sujeto control (celeste) y un sujeto del grupo O-LOAD (naranja).

Por su parte, al estudiar el acoplamiento de las 84 **regiones de GM** tampoco se encuentran diferencias significativas comparando los valores obtenidos para cada grupo ($p = 0.7619$). En el panel izquierdo de la Fig. 5.24 se presenta un gráfico de cajas de la distribución del acoplamiento de las regiones en cada grupo. Además, en la búsqueda intra-grupo de esta escala, no se halló ninguna región cuyo acoplamiento tenga significancia estadística ($p < 0.05$) en ninguno de los grupos. A modo de ejemplo, en el panel derecho de la Fig. 5.24 se muestran los valores de SC vs. FC para el cúneo izquierdo (L.CU). Para esta región, se obtuvieron valores de acoplamiento con comportamiento opuesto: para el

grupo control se observa una tendencia positiva ($ACOP_{CS} = 0.366$), mientras que para el grupo experimental una tendencia negativa ($ACOP_{OLOAD} = -0.495$).

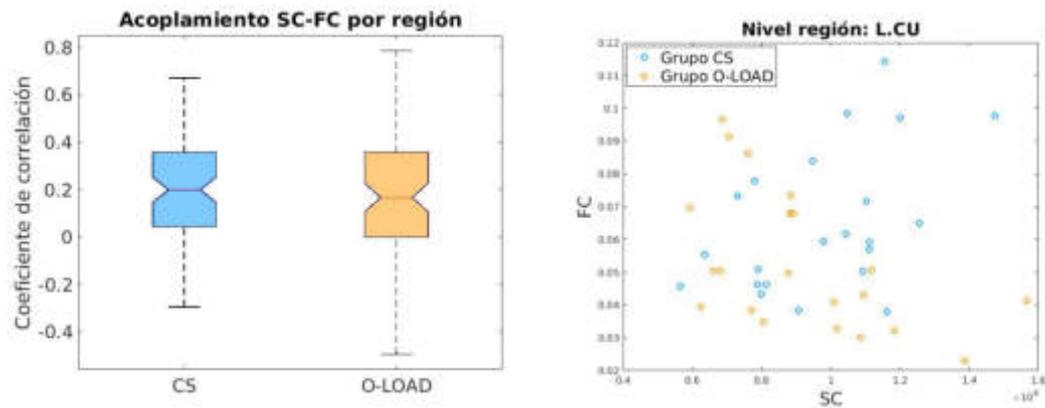


FIGURA 5.24: Izquierda: gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC obtenidos en la escala por región para cada grupo. Derecha: valores de la SC vs. FC del cúneo izquierdo (L.CU) para ambos grupos.

Finalmente, al analizar la métrica de acoplamiento SC-FC que caracterizó los **pares de conexión** tampoco se halló diferencia estadística entre grupos ($p = 0.3886$). La Fig. 5.25 muestra las cajas de los acoplamiento para cada grupo, evidenciando una superposición en sus valores. Sin embargo, al evaluar esta escala en el modo intra-grupo, sí se encontraron pares de conexión con alto valor de acoplamiento ($ACOP > 0.7$) y significancia estadística ($p < 0.05$) luego de aplicar la corrección FDR-HB en cada grupo de sujetos. Exigiendo al menos un 50% de presencia de cada conexión entre los sujetos de cada grupo, en el grupo CS se hallaron 20 pares de conexión con estas características mientras que en el grupo O-LOAD sólo se encontraron 10. Resultó interesante explorar si alguno de estos pares de conexión se repite entre grupos, pero más aún cuáles caracterizaron al grupo O-LOAD y no al grupo CS.

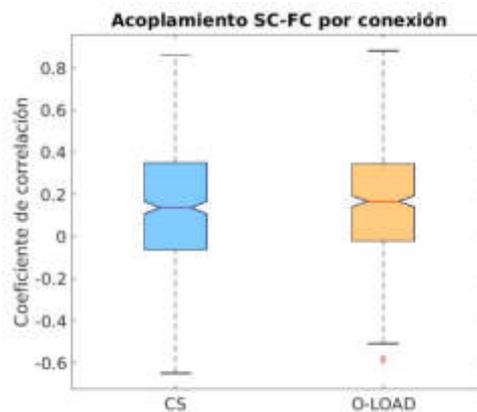


FIGURA 5.25: Gráfico de cajas de la distribución de los coeficientes de acoplamiento SC-FC obtenidos en la escala por conexión para cada grupo. Ambos grupos presentan distribuciones similares y no se hallan diferencias estadísticas entre ellos.

En el panel superior de la Fig. 5.26 se presentan los 20 pares de conexiones significativos del grupo CS, mientras que en el inferior los correspondientes al grupo O-LOAD. El color de los enlaces señala la magnitud del coeficiente de acoplamiento que en todos los casos resultó positivo, es decir a mayor SC mayor FC. La única conexión en común entre ambos grupos es la dada entre el tálamo y la *pars opercularis* ambos del hemisferio izquierdo, con $ACOP_{CS} = 0.8534$ y $ACOP_{OLOAD} = 0.8087$ respectivamente. En la Tabla 5.6 izquierda se exhiben los pares de conexión significativos presentes únicamente en el grupo CS y sus valores de acoplamiento, mientras que a la derecha se presentan los del grupo O-LOAD. De particular interés para los hallazgos de esta Tesis, es que dos áreas altamente relevantes en la neuropatología de la AD, a saber hipocampos y precuneos (subrayados en la Tabla), exhiben acoplamiento estructural-funcional significativo en CS pero no en O-LOAD.

Grupo CS		Grupo O-LOAD	
Par de conexión	Acoplamiento (r)	Par de conexión	Acoplamiento (r)
L.BSTS - L.TH	0.7412	L.ICG - R.FG	0.8047
L.CU - R.PCG	0.7236	L.LG - R.CACG	0.8832
L.EC - L.TH	0.8216	L.PrCG - L.TTG	0.7464
L.EC - L.PU	0.8171	L.RMFG - L.TTG	0.7789
L.FG - <u>L.PCU</u>	0.8319	R.PA - R.CU	0.7617
L.IPG - L.AM	0.8453	R.AM - R.SFG	0.8324
L.POR - <u>R.PCU</u>	0.7877	R.BSTS - R.FG	0.7949
L.PoCG - R.LOFG	0.7834	R.CU - R.LG	0.8749
L.PrCG - R.FP	0.7833	R.POP - R.PoCG	0.8275
L.SMG - R.PrCG	0.7178		
L.FP - L.CA	0.7898		
L.PA - R.PA	0.7950		
<u>L.HI</u> - R.PU	0.8269		
<u>L.HI</u> - R.CMFG	0.7541		
<u>R.HI</u> - R.LG	0.8620		
R.BSTS - R.PoCG	0.7538		
R.FG - R.PHIG	0.7529		
R.FG - <u>R.PCU</u>	0.7920		
R.PoCG - R.SFG	0.7638		

TABLA 5.6: Pares de conexión cuyo acoplamiento SC-FC resultó significativo en cada grupo. Estas conexiones se grafican en la Fig. 5.26. En el Apéndice B se presenta el nombre completo y las etiquetas de cada región.

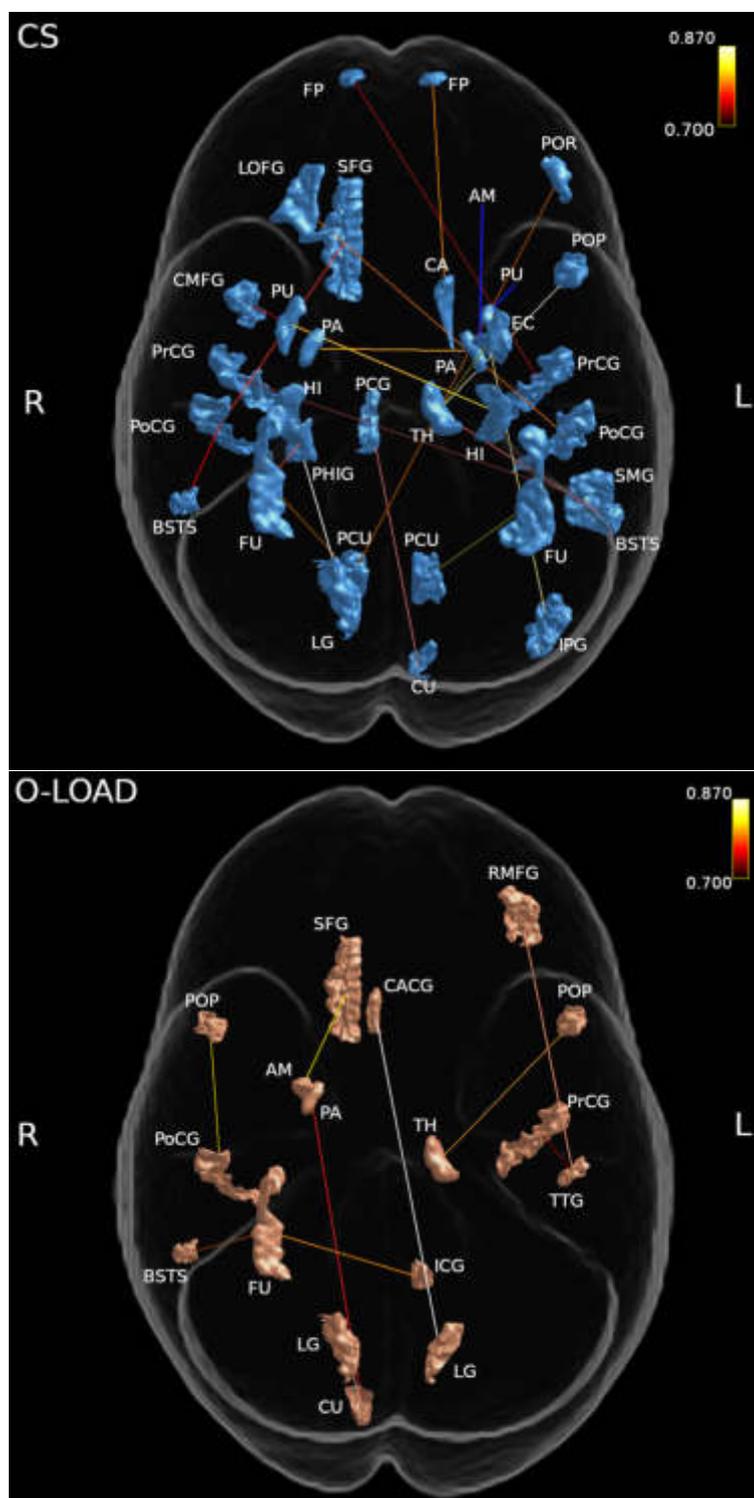


FIGURA 5.26: Pares de conexión cuyos valores de acoplamiento SC-FC resultaron significativos en el grupo CS (panel superior) y en el grupo O-LOAD (panel inferior). El color de los enlaces depende de la magnitud del valor de acoplamiento.

Capítulo 6

Discusión y conclusiones

En este Capítulo se discuten los resultados obtenidos para cada metodología aplicada, y se los relaciona con la literatura conocida hasta el momento. Se detallan también las limitaciones técnicas encontradas y se sugieren posibles soluciones para futuras investigaciones. Por último se presentan las conclusiones.

6.1. Discusión

6.1.1. Sobre la conectividad estructural

A través del empleo de herramientas y técnicas para el estudio de conectividad estructural, tales como la comparación de los elementos de matrices estructurales y el análisis mediante teoría de grafos, no se han encontrado resultados relevantes que diferencien al grupo de sujetos sanos pero en riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer (AD) debido a sus antecedentes familiares respecto al grupo control. Sin embargo, en la literatura se ha reportado una disminución en la conectividad estructural de pacientes con AD y sujetos con deterioro cognitivo leve amnésico (cuadro que también podría interpretarse como un estadio previo a la AD) respecto a un grupo control [108]. Por su parte, en el trabajo de Shao y cols. [109], han podido diferenciar a pacientes con AD de sujetos sanos y con deterioro cognitivo leve, incorporando información obtenida a partir de tractografía y métricas de la microestructura de sustancia blanca a modelos de aprendizaje automático. Teniendo en cuenta estos antecedentes y considerando que la muestra analizada en esta Tesis no ha arrojado diferencias relevantes en el estudio mediante matrices estructurales, se infiere que el grupo de adultos sanos pero en riesgo de padecer AD no presenta un deterioro estructural tal que pueda reconstruirse y cuantificarse con las técnicas aplicadas en esta sección del trabajo.

No obstante, los análisis de conectividad estructural permitieron describir los aspectos topológicos de las redes cerebrales que conforman cada una de las poblaciones de

estudio. En ambos casos, las matrices que almacenan la información de las conexiones anatómicas reconstruidas mediante la tractografía, resultan simétricas, no binarias (o pesadas) y esparsas. El hecho que sean simétricas y no binarias está fuertemente ligado al tipo de algoritmo de tractografía ejecutado. En cambio que además sean esparsas, sí sería parte de los aspectos de la conectividad estructural cerebral [110]. Además de esta característica, estas redes suelen tener pocas conexiones de largo alcance (en términos de anatomía cerebral) y sus regiones tienden a presentar cierto grado de agrupamiento, lo que en su conjunto lleva a una topología de redes de mundo pequeño. La literatura sugiere que el principal motivo de esta organización es para maximizar la complejidad funcional minimizando los costos de su arquitectura estructural [37, 110]. A pesar de la creciente evidencia de que la conectividad estructural cerebral responde a redes de mundo pequeño, otras publicaciones han planteado la inquietud sobre si es una cuestión de la parcelación anatómica y escala espacial empleadas en el análisis correspondiente [111].

6.1.2. Sobre la microestructura de sustancia blanca

Los resultados encontrados para la microestructura de sustancia blanca son: 1) disminución de la densidad de fibras (FD) en el grupo con antecedentes familiares de LOAD respecto al grupo control en el tracto que involucra la parte posterior del cuerpo calloso y el fórnix derecho; 2) disminución de la fracción de anisotropía (FA) y aumento de la difusividad media (MD) en el mismo tracto en el grupo con antecedentes familiares de LOAD respecto al grupo control; 3) correlación negativa entre el puntaje obtenido en la fluencia semántica y la FA del tracto deteriorado en los sujetos O-LOAD; 4) tendencia a asociaciones significativas en el grupo O-LOAD entre la FD del tracto y la intensidad de PET-PiB del hipocampo derecho, entre la FD del tracto y el espesor del precúneo izquierdo, y finalmente entre la MD del tracto y el espesor de la circunvolución temporal superior derecha; 5) tendencia a asociaciones significativas en el grupo CS (es decir, ausencia en el grupo O-LOAD) de diversas asociaciones entre las métricas de microestructura de sustancia blanca del tracto y medidas morfológicas y de imágenes PET en el tálamo derecho, la circunvolución temporal medio izquierda y la parietal superior bilateral.

En primer lugar es importante destacar la motivación por la que fue aplicado el análisis basado en fíxeles (FBA) para el estudio de microestructura de sustancia blanca. Así como las métricas convencionales calculadas son aquellas que derivan del Tensor de Difusión (FA y MD, entre otras) y caracterizan la microestructura a escala del vóxel pero pierden información importante en las áreas de entrecruzamiento de fibras [16, 21, 22], usualmente se utiliza un método también a escala del vóxel para explorar las propiedades de sustancia blanca globales en un grupo de sujetos. Sin embargo, este método, llamado Estadística Espacial basada en Tractos (TBSS) [112] no analiza ni considera las

características más sutiles como la densidad y diámetro de tractos individuales [85, 113] que podrían verse afectados en enfermedades neurodegenerativas como AD [56]. Al momento del desarrollo y publicación de estos resultados en la revista científica *Journal of Psychiatric Research* (Enero 2020), no se registraron otros artículos científicos sobre esta metodología en muestras de individuos en riesgo de padecer AD.

Con la implementación del FBA y debido a su robustez metodológica se logró mejorar el alcance estadístico del estudio y la identificación de un tracto de sustancia blanca con densidad disminuida en el grupo O-LOAD respecto al grupo control. En particular, se observó una marcada disminución (que va del 4% al 50%) en la densidad de fibras del tracto que comprende la parte posterior del cuerpo caloso y el fórnix derecho en el grupo de sujetos con riesgo aumentado de padecer LOAD debido a su antecedente familiar en comparación con el grupo control sin antecedentes de AD. Resultados similares se reportan en el trabajo de Mito y cols. [56], donde encontraron deficiencias en métricas microestructurales (FD) y macroestructurales (FC y FDC) en pacientes con AD en diversos tractos incluyendo el esplenio del cuerpo caloso. Asimismo, se empleó el tracto encontrado para medir las métricas más convencionales (FA y MD) y compararlas entre grupos. Estos resultados a escala de los vóxeles, fueron consistentes no sólo con el obtenido de FD, sino también con trabajos donde se estudiaron pacientes con AD [56, 57] y sujetos con AD preclínico y reportaron menor FA en el cuerpo caloso, en las circunvoluciones cingulares [59] y en el fórnix [114]. Biológicamente, estas anomalías en la microestructura de sustancia blanca podrían deberse a una disminución del número de axones o a un deterioro de la mielina que los recubre.

Si bien el tracto deteriorado en el grupo O-LOAD es pequeño en términos de su extensión y volumen, resulta interesante observar qué regiones de sustancia gris podrían conectar sus fibras nerviosas y si éstas sufren algún impacto debido a su deterioro. Dentro de este conjunto se encontraron el precúneo, la circunvolución parietal e hipocampo derechos, regiones que son consideradas entre las primeras afectadas por LOAD, especialmente debido a la acumulación de ovillos neurofibrilares de la proteína τ [115, 116].

Respecto a las posibles asociaciones entre métricas de sustancia blanca y sustancia gris, para cada grupo se encontraron correlaciones diferentes. En el grupo CS, la mayoría de estas asociaciones involucra el tálamo derecho y la circunvolución parietal superior bilateral: a mayor densidad y organización de fibras en el tracto, mayor volumen y espesor de estas estructuras de sustancia gris. Por su parte, en el grupo O-LOAD, se encontró una relación inversa entre la cantidad de fibras y el espesor cortical del precúneo izquierdo. Es decir, a mayor deterioro de sustancia blanca (menor densidad de fibras), mayor espesor cortical del precúneo izquierdo. Esto puede pensarse como un proceso compensatorio entre el déficit en las conexiones y la estructura propia de la región. En el caso de las asociaciones entre métricas de sustancia blanca y señales PET, en el grupo control se observó una relación directa en el tálamo derecho y la circunvolución parietal superior bilateral. Es decir, a mayor intensidad de la señal PET-PiB o PET-FDG (que indica

mayor metabolismo cerebral) en estas regiones, se tiene mayor organización y densidad de fibras. Sin embargo, en el grupo O-LOAD se encontró un comportamiento similar pero en el hipocampo derecho. Esto podría reflejar efectos normales de envejecimiento. Si bien estos resultados sólo podrían representar tendencias debido a su bajo poder estadístico, la metodología exploratoria es acorde con lo que se plantea en otros trabajos publicados posteriormente [113]. En el artículo de revisión de Dhollander y cols. [113], se recolectaron publicaciones que buscaron relacionar los diferentes aspectos de la arquitectura y funcionamiento cerebral, empleando métricas provenientes de FBA y reportando resultados para diversos estados cerebrales y enfermedades neurodegenerativas.

Por último, el hecho de que la fluencia semántica fuera la única variable cognitiva asociada al deterioro del tracto, sugiere que esta anomalía anatómica podría tener implicancias clínicas, como se discute en el trabajo de Laauta y colaboradores [117].

6.1.3. Sobre los mapas de conectividad funcional

Los hallazgos principales del estudio sobre mapas de conectividad funcional a partir de la corteza entorrinal y el tálamo antero-dorsal son los siguientes: 1) los patrones de conectividad funcional de la corteza entorrinal se vieron afectados por el riesgo de padecer LOAD debido a antecedentes familiares; 2) los sujetos del grupo O-LOAD presentan correlación negativa entre conexiones de la corteza entorrinal y el fracaso para recuperarse de la interferencia proactiva (frPSI); 3) del mismo modo se identificaron conexiones del tálamo antero-dorsal correlacionando negativamente con frPSI; 4) las medidas del LASSI-L fueron sensibles al frPSI y se encuentran asociadas a diferentes patrones de conectividad funcional en regiones límbicas y neocorticales.

Para esta sección del análisis de conectividad funcional se decidió incluir dos regiones como semillas: la corteza entorrinal y el tálamo antero-dorsal. La primera es una estructura bilateral ubicada en el lóbulo temporal medial. Hace más de dos décadas se encontraron acumulaciones de ovillos neurofibrilares *post-mortem* en pacientes con AD y desde entonces se ha confirmado consistentemente en trabajos posteriores [57]. Depósitos de la proteína τ también fueron encontrados en esta área y se cree que podría conducir a una desconexión en el flujo de información entre el hipocampo y áreas de la neocorteza, así como también contribuir a la deficiencia en la memoria episódica. Motivados por estos hallazgos patológicos, numerosos trabajos han estudiado y reportado cambios en la morfología de la corteza entorrinal y en su conectividad funcional en pacientes con AD [57]. En línea con los resultados comparativos globales entre los grupos presentes en esta Tesis, se ha reportado una menor conectividad funcional en los patrones de la corteza entorrinal en sujetos en riesgo genético de padecer la enfermedad [118], además de cambios en la conectividad entre dicha región y el lóbulo temporal medial en sujetos en riesgo de padecer AD debido a sus antecedentes familiares [119]. Sin embargo, al explorar el mapa de conectividad del grupo O-LOAD, la sincronización entre la corteza

entorrinal y el cíngulo posterior así como también con el precúneo resulta alta, pudiendo ser debido a procesos compensatorios asociados a estadios tempranos de la enfermedad [120].

Por su parte, el tálamo es una región bilateral subcortical. También se han reportado estudios *post-mortem* donde se exhiben atrofas tempranas específicamente en la porción antero-dorsal con presencia de depósitos de ovillos neurofibrilares en pacientes con AD [51, 121]. Además, el tálamo se conecta con regiones que son claves para la memoria episódica y en particular su porción antero-dorsal para las funciones de la memoria declarativa [57]. En contraposición a lo esperado, se han encontrado patrones de conectividad funcional similares entre el grupo en riesgo de padecer AD debido a sus antecedentes familiares y el grupo control. Esto puede deberse a que los sujetos del grupo control podrían presentar una deficiencia similar al grupo O-LOAD pero en este caso debido al propio envejecimiento.

Dado que los sujetos reclutados no manifiestan LOAD, y son en promedio 10 a 20 años más jóvenes que aquellos que componen la muestra de sujetos en riesgo de desarrollar LOAD mencionada en los estudios de conectividad funcional [119, 120], los hallazgos aquí presentados podrían estar reflejando procesos compensatorios asociados a un estadio previo de la enfermedad. De hecho, este fenómeno ha sido observado previamente en el trabajo de Bassett y cols. [120] donde se reportó que individuos con al menos un progenitor diagnosticado con LOAD exhibieron mayores áreas de activación que controles sin antecedentes en respuesta a una tarea de aprendizaje episódico. Por lo tanto una alta conectividad podría ser producto de un aumento de actividad compensatoria en regiones con alteraciones neurodegenerativas tempranas (o de neurodesarrollo). No obstante, las comparaciones entre grupos mostraron mayor conectividad entre el área entorrinal y la corteza orbitofrontal, cíngulo anterior, y áreas temporales anteriores únicamente, lo cual sugiere una disfunción temprana de la corteza entorrinal en sujetos en riesgo antes que la neurodegeneración sea evidente.

Las medidas de la prueba LASSI-L vinculadas al frPSI en el presente estudio se asociaron a la presencia de conectividad en regiones límbicas y neocorticales relevantes a la fisiopatología del LOAD en coincidencia con lo descrito en otros trabajos [51, 119]. En los O-LOAD, un bajo desempeño en las medidas del LASSI-L sensibles al frPSI correlacionó con menor conectividad en una red que abarca estructuras subcorticales y alo corticales y la corteza prefrontal.

Desde un punto de vista neurocognitivo, Loewenstein y cols. [63] demostraron que el frPSI estaba asociado a la carga amiloidea regional y global en personas mayores cognitivamente normales, aunque el efecto del frPSI pudo haber estado mediado por alteraciones asociadas a τ en el área entorrinal, los núcleos talámicos límbicos y proyecciones límbicas posiblemente anormales del tronco encefálico, como se describió en estudios neuropatológicos de muestras poblacionales generales [51]. Sin embargo, como se

mencionó previamente, los presentes hallazgos podrían evidenciar las consecuencias funcionales de una acumulación intracelular de τ , y entonces resultaría plausible confirmar la hipótesis propuesta con evidencia *in vivo* de depósitos de τ en estas áreas vulnerables para la enfermedad de Alzheimer con radiofármacos para τ . En caso de lograr dicha confirmación, los presentes resultados podrían servir como antecedentes para establecer medidas clínicas y de conectividad funcional en estado de reposo tempranas y accesibles, lo suficientemente sensibles para detectar cambios asociados a LOAD décadas antes del inicio esperado de los síntomas clínicos.

6.1.4. Sobre el acoplamiento de las conectividades

Los resultados más relevantes para esta última etapa del análisis son: 1) 19 pares de conexión cuyo acoplamiento entre la conectividad estructural y la funcional es significativo únicamente en el grupo control y que incluyen las siguientes áreas corteza entorrinal y tálamo izquierdos, hipocampo y precúneo bilaterales, y cíngulo posterior derecho; 2) en el caso del grupo con antecedentes familiares de LOAD, se encontraron 9 pares de conexión cuyo acoplamiento es significativo e involucran áreas como el cíngulo ístmico y la circunvolución temporal transversa izquierdos, y el cíngulo anterior caudal y la *pars opercularis* izquierdos.

Resulta interesante observar algunas características básicas de estos hallazgos para su interpretación. En primer lugar, si bien es usual hablar de la “fuerza” de una conexión estructural, en esta Tesis se toma la opción más conservadora y nos referimos a la cantidad de *streamlines* generados. Dadas las características de la adquisición de las imágenes de difusión que dan lugar a la conectividad estructural, sería apresurado hablar de una equivalencia directa entre fibras nerviosas de sustancia blanca presentes y *streamlines* generados por el algoritmo de tractografía. En cambio, resulta más acertado entender que podría existir una proporcionalidad entre ambas medidas. En segundo lugar, todos los valores de acoplamiento obtenidos son positivos, es decir que a mayor cantidad de *streamlines* generados entre dos regiones mayor sincronización funcional entre ellas. En tercer lugar, al haber obtenido resultados que se basan en la significancia estadística (valor de p) asociada al acoplamiento calculado, es relevante observar qué pares de conexión emergen en el grupo control y no en el grupo en riesgo de padecer AD. Es decir, evaluar la ausencia de características en este grupo que podrían conducir a indicios tempranos de una deficiencia neurodegenerativa.

Respecto al tratamiento que recibió la conectividad estructural y la funcional de cada sujeto, vale destacar que con el objetivo de responder si la conectividad estructural puede predecir la funcional se consideraron únicamente los pares de regiones que están conectados estructuralmente [96, 122]. Con esto también se buscó remover las conexiones funcionales lejanas ya que las matrices de conectividad estructural dan información de conexiones directas y no a través de otras regiones intermediarias [37]. Por último

y como ya fue mencionado, estos conectomas no presentaron diferencias estadísticas entre grupos en la cantidad de *streamlines* generados por par de conexión, es decir en términos generales los enlaces reconstruidos entre regiones son equivalentes en ambos grupos llevando a una eficiencia similar en el transporte de información y comunicación entre áreas cerebral.

Se estudiaron entonces tres niveles de acoplamiento: por sujeto, por región de sustancia gris, y por par de conexión. El nivel de mayor escala, es decir por sujeto, y el de escala media, por región de sustancia gris, presentan comportamientos similares entre ambos grupos de sujetos. Sin embargo, de ser posible replicar la metodología empleada en esta Tesis en muestras con mayor cantidad de sujetos o incluso con AD diagnosticada, es importante no omitir estas escalas ya que sí se reportan resultados en pacientes con otras patologías, como por ejemplo esquizofrenia [96] y desorden bipolar [122], e incluso al estudiar el neurodesarrollo [123].

Por último, el nivel más detallado del acoplamiento, es decir el de pares de conexión, es el que arrojó resultados diferentes entre grupos. En línea con lo discutido en secciones anteriores y con lo reportado en trabajos sobre la patología de AD, cabe destacar que el grupo en riesgo de padecerla no presenta acoplamiento de conectividades significativo en regiones que están catalogadas como las primeras en verse afectadas por dicha enfermedad. Dentro de estas regiones se pueden mencionar: la corteza entorrinal izquierda (donde también se observaron anomalías en su conectividad funcional), los precúneos bilaterales y cíngulo posterior derecho (con deficiencias tanto estructurales como funcionales), e hipocampo derecho (conectado a través del fórnix, tracto con una marcada disminución en su densidad de fibras). Además del tálamo e hipocampo izquierdos que del mismo modo aumentan la lista de regiones afectadas tempranamente. Los pares de conexión que sí presentan un acoplamiento significativo en el grupo de riesgo podrían deberse a procesos compensatorios del mismo modo que se interpretó en el caso de los mapas de conectividad funcional.

6.2. Limitaciones y sus posibles soluciones

Este trabajo de investigación presenta algunas limitaciones. En primer lugar, el número de sujetos en cada grupo es modesto y los hallazgos deben ser replicados en una muestra de mayor tamaño. Además, la muestra de hijos de pacientes con LOAD pertenece a una única región geográfica y etnia, lo cual limita la generalización de los hallazgos. Sería sumamente interesante y útil en términos medicinales, explorar grupos similares de sujetos de diferentes regiones de la República Argentina como también de países latinoamericanos para lograr una descripción profunda y estratégica regionalmente. Finalmente, incorporar un tercer grupo de estudio de pacientes de LOAD para

establecer diferencias entre sujetos sanos, sujetos en riesgo de padecer la enfermedad y sujetos ya diagnosticados.

Respecto al análisis de las imágenes de difusión (dMRI) de esta Tesis, el mismo contó con diversos desafíos debido a los parámetros aplicados durante la adquisición. En el caso de desarrollar un nuevo proyecto, se deberían incorporar mayor cantidad de volúmenes sin gradientes de difusión, es decir volúmenes b_0 , a lo largo de la adquisición de modo tal de poder realizar un control temporal de la intensidad del campo aplicado. Además, agregar otros valores del factor b mayores al usual $b_1 = 1000 \text{ s/mm}^2$, por ejemplo $b_2 = 2000 \text{ s/mm}^2$ y $b_3 = 3000 \text{ s/mm}^2$ de modo tal de aprovechar las ventajas que traen aparejadas las adquisiciones con múltiples capas y que impactan directamente en la interpretación de los valores de conectividad estructural. Por último, incrementar el número de gradientes con direcciones no colineales a, al menos, 45 para poder desarrollar la base de armónicos esféricos a orden 8. Aumentar el orden máximo de esta base permite obtener mayor detalle en la descripción de la función de distribución de orientaciones de fibras por vóxel. Clínicamente, el protocolo adquirido para las imágenes de difusión es eficiente, pero al utilizarse para el estudio científico conduce a desafíos técnicos que demandan mayor atención (y recursos computacionales) durante el procesado. En general, mejorar el protocolo de adquisición de las imágenes permitiría resultados biológicamente más precisos y acertados.

6.3. Conclusiones

A partir de la discusión anterior se desprenden diversas ideas generales. En primer lugar, la muestra de sujetos en riesgo de padecer AD debido a sus antecedentes familiares permitió explorar lo que podrían ser estadíos tempranos de la enfermedad, cuantificar anomalías y cambios, en ocasiones sutiles, respecto a un grupo control sin el riesgo mencionado de contraer la enfermedad, similar en número de participantes, género, edad y características cognitivas, y poner a prueba técnicas de análisis y procesamiento de imágenes elaboradas originalmente con el objetivo de estudiar estadíos más avanzados de daño cerebral y por tanto, con obvias anomalías macroscópicas.

De las distintas etapas de esta Tesis, se puede decir que tanto para el estudio de la microestructura de sustancia blanca como en el caso del acoplamiento de conectividades estructural y funcional, los métodos más acertados en términos de hallazgos e interpretaciones resultaron ser aquellos que resolvieron de un modo más detallado las preguntas planteadas. Es decir, el análisis basado en fíxeles y el acoplamiento por pares de conexión. Estos métodos fueron los más sensibles para identificar lo que podrían ser biomarcadores de la enfermedad de AD en la presente muestra de sujetos con riesgo de desarrollarla.

Respecto a la conectividad estructural expresada a través de matrices, no se encontraron diferencias significativas entre grupos, pudiéndose deber a que las técnicas aplicadas no eran adecuadas para enfatizarlas, o bien a que biológicamente todavía no se ven cambios reflejados en el comportamiento del cerebro como red. En cambio, para el análisis de la actividad funcional del cerebro en estado de reposo el método de semillas empleando el área de la corteza entorrinal arrojó resultados acordes con lo esperado y reportado en la literatura. Se puede concluir entonces, que los cambios estructurales en la sustancia blanca son más sutiles que los referidos al funcionamiento cerebral en etapas tempranas de AD, y que su incremento y notoriedad podrían ocurrir en instancias posteriores e incluso con menor celeridad que los funcionales.

En general los resultados aquí presentados aportan a la creciente evidencia sobre el deterioro tanto estructural como funcional y su conjunción en sujetos que podrían encontrarse en estadios tempranos o preclínicos de la AD. Además, teniendo en cuenta otras contrapartes del proyecto transmodal que engloba esta Tesis, se puede trazar una correspondencia entre los hallazgos cognitivos, clínicos, morfológicos y funcionales derivados de diversas técnicas. De ser los resultados corroborados en otras muestras, podrían incorporarse las técnicas aquí aplicadas al conjunto de herramientas disponibles y sobre todo accesibles, no invasivas y sensibles para detectar cambios preclínicos asociados a AD.

Por supuesto que además quedan interrogantes sin responder acerca de la naturaleza del cerebro, su estructura y funcionamiento, tanto en el caso de sujetos sanos como en pacientes de diversas patologías neurodegenerativas. A lo largo de esta Tesis también se buscó mostrar la importancia de los enfoques interdisciplinarios en los trabajos científicos, acompañada de la relevancia y el desafío que conlleva aplicar técnicas que originalmente fueron desarrolladas para otros escenarios. Sin dudas, es posible enriquecer el mundo de las neuroimágenes mediante el abordaje de herramientas de la Física, así como también el desarrollo de estas herramientas físicas con una perspectiva interdisciplinaria.

Apéndice A

Material suplementario de métodos y procesamiento de imágenes

A.1. Análisis basado en fíxeles

Aquí se especifican los pasos que conforman el análisis basado en fíxeles (FBA) que fue implementado para el estudio de la microestructura de sustancia blanca. La Fig. A.1 esquematiza este procesamiento.

- a) Se estima las distribuciones de orientaciones de fibras (FOD) a partir de las imágenes de dMRI;
- b) las imágenes FOD se trasladan, mediante operaciones de normalización, hacia un espacio común promedio del grupo específico de estudio, obteniéndose una plantilla FOD;
- c) cada FOD de cada vóxel de la plantilla es segmentada en fíxeles individuales, y son umbralizadas según la densidad de fibras (FD) para crear una máscara de análisis fijo (también en el espacio promedio común);
- d) se estiman los mapas de deformación a partir de la normalización ejecutada;
- e) cada FOD ya trasladada al espacio de la plantilla (FOD deformada) es segmentada para estimar la FD por fixel. Se obtiene además una correspondencia angular entre los fíxeles en el espacio de cada sujeto y en el espacio promedio común;
- f) la FD es comparada entre grupos, fixel por fixel;

- g) se estima el cambio en la sección transversal sobre cada haz de fibras (FC), y se lo compara entre grupos;
- h) la FD es modulada por la FC para obtener el cambio en la densidad de la sección transversal del haz de fibras (FDC). Se compara la FDC entre los dos grupos.

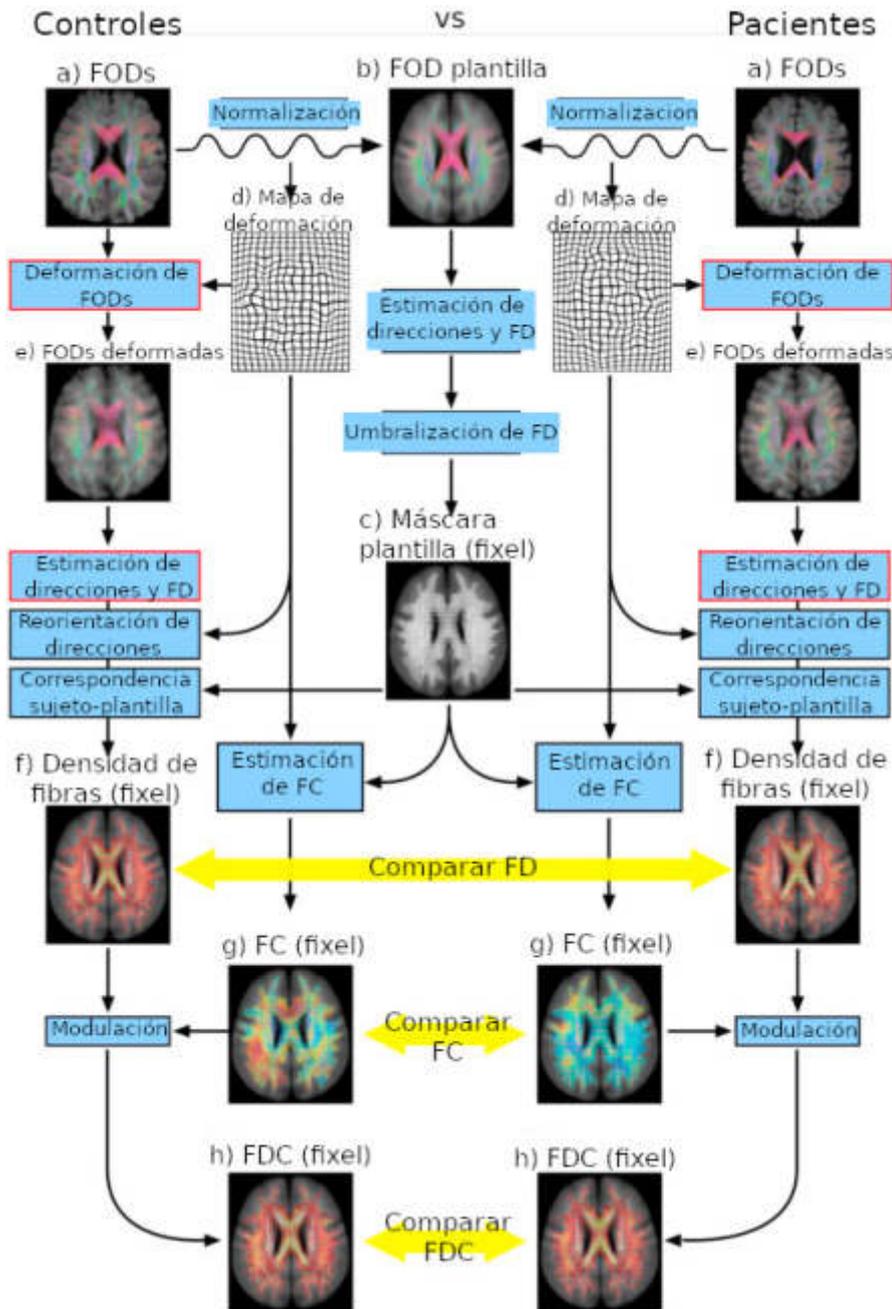


FIGURA A.1: Figura tomada del artículo [6]. Se presenta un diagrama detallado de todas las etapas de análisis basado en fíxeles aplicado en un grupo control y otro de pacientes. FOD = distribución de orientación de fibras; FD = densidad de fibras; FC = sección transversal de fibras; FDC = sección transversal y densidad de fibras.

A.2. Evaluación cognitiva de interferencia semántica y aprendizaje LASSI-L

A continuación se describe el procedimiento completo de la administración de la técnica. La misma fue llevada a cabo en una sesión separada de 30 minutos en un día distinto del que se realizaba la evaluación cognitiva para evitar efectos de interferencia entre los ítems semánticos de la LASSI-L y otras pruebas.

Se presenta una lista de 15 palabras (lista *A*) compuesta de frutas, instrumentos musicales y prendas de vestir escritas en tarjetas individuales en orden aleatorio. Los sujetos deben leer cada palabra en voz alta y recordarlas. Luego se les pide que evoquen las palabras inmediatamente después de la exposición. Después de este ensayo de recuerdo libre, los sujetos deben evocar las palabras pertenecientes a cada categoría semántica. A continuación se presenta por segunda vez la lista *A* y se solicita a los evaluados evocar inmediatamente las palabras pertenecientes a cada categoría semántica. Este ensayo permite una mayor codificación y por consiguiente un mayor almacenamiento de los estímulos. Luego, se presenta una lista *B* competidora con el mismo formato que la lista *A* y compuesta por las mismas categorías semánticas pero con diferentes estímulos. Se administra la lista *B* siguiendo el mismo procedimiento que el de la lista *A*. La primera evocación organizada por las categorías semánticas es el **recuerdo facilitado 1B** y la segunda evocación es el **recuerdo facilitado 2B**. Después de la codificación y la evocación de la lista *B*, se les pide a los sujetos que evoquen los estímulos de la lista *A* mediante recuerdo libre y facilitado (**recuerdo libre A3** y **recuerdo facilitado A3** respectivamente). Finalmente, luego de un periodo de 20 minutos se pide a los participantes que evoquen libremente la mayor cantidad de palabras posibles tanto de la lista *A* como de la lista *B* de forma indistinta, sin necesidad de referir la fuente de cada estímulo (**recuerdo diferido**) [124].

A.3. Adquisición de imágenes de PET

A.3.1. Síntesis del 18F-FDG

Se adquirieron imágenes de PET con un dispositivo PET/CT General Electric 690. La síntesis principal de FDG se ejecuta en un sintetizador FASTLAB interno. El sintetizador es un sistema compacto automático que convierte el fluoruro-[18F] en [18F]-FDG listo para control de calidad, utilizable en el PET. La síntesis se realiza en un conducto de flujo descartable llamado cassette de FDG. Este cassette se reemplaza tras cada uso para asegurar una operación limpia y replicable para cada producción de FDG. Todo el proceso de síntesis toma alrededor de 25 minutos. La solución FDG (~15 ml) y el radionucleido resultantes se producen con forma de iones de fluoruro por

bombardero de agua-[18O] (2.5-5 ml) con protones acelerados en el ciclotrón. Para las producciones internas la cantidad de actividad-18F recuperada es usualmente de 1500-7000 mCi. Durante la irradiación el sintetizador puede realizar la prueba del cassette y los pasos preliminares de síntesis (acondicionamiento del cassette). El participante debe encontrarse en ayunas por 6 hs, tener un nivel de glucosa en sangre por debajo de 130 mg/dl y el procedimiento debe llevarse a cabo en una habitación tranquila con luz tenue. La imagen se adquirió entre 30 y 40 minutos después de la administración del FDG durante 30 minutos.

A.3.2. Síntesis del ¹¹C-PiB

La síntesis del [¹¹C]-PiB se realizó en un módulo GE TRACER lab FXC PRO, un sistema compacto automatizado que produce radioquímicos marcados [C-11] a partir del [¹¹C]-CO₂. El módulo incluye un sistema de purificación mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El HPLC es un método de separación que permite el aislamiento del producto marcado de los derivados radioactivos y las impurezas orgánicas. El HPLC interno se lleva a cabo con una solución de citrato de sodio 0.009 M en etanol/agua (60/40) como fase móvil con un flujo de 3 ml/min y una columna de HPLC de fase reversa (RP-HPLC). Los cromatogramas fueron registrados con un detector UV y un detector de radioactividad en serie. La fracción que contiene el punto máximo del producto [¹¹C]-PiB se extrae del sistema de cromatografía por cambio de válvula de desecho a línea de producto. La fracción [¹¹C]-PiB (tiempo de retención 12 minutos) se transfiere a un matraz y se diluye en una solución salina de 30 mL para reducir el porcentaje de etanol. El volumen total final es de 36 ml. La solución PiB se encuentra lista para ser fraccionada luego del filtrado esterilizado. La solución 10 mCi (ajustada por peso) fue administrada y la adquisición de imágenes se llevó a cabo 50 minutos después de la administración del [¹¹C]-PiB. La adquisición de imágenes dinámicas tomográficas 3D lleva 20 minutos.

Apéndice B

Parcelaciones de sustancia gris utilizadas

A lo largo de esta Tesis se han utilizado regiones cerebrales de tres atlas diferentes según la necesidad de cada caso. A continuación se presenta el listado de las regiones que componen cada uno.

B.1. Atlas Desikan-Killiany

Para el estudio de la microestructura de WM, de la conectividad estructural y la funcional, se utilizó una selección de las principales regiones que componen el atlas Desikan-Killiany [73], habiendo 35 regiones corticales y 7 regiones subcorticales por hemisferio cerebral. El procedimiento de obtención se explica en la Sección 4.3. Los resultados obtenidos a partir de este atlas están detallados en las Secciones 5.3, 5.2, 5.5 y 5.6.

Etiqueta	Nombre en español
BSTS	Bancos del surco temporal superior
CACG	Cíngulo anterior caudal
CMFG	Circunvolución frontal medio caudal
CU	Cúneo
EC	Corteza entorrinal
FG	Circunvolución fusiforme
IPG	Circunvolución parietal inferior
ITG	Circunvolución temporal inferior
ICG	Cíngulo ístmico
LOG	Circunvolución occipital lateral
LOFG	Circunvolución orbitofrontal lateral

LG	Circunvolución lingual
MOFG	Circunvolución orbitofrontal medial
MTG	Circunvolución temporal medio
PHIG	Circunvolución parahipocampal
PaCG	Circunvolución paracentral
POP	<i>Pars opercularis</i>
POR	<i>Pars orbitalis</i>
PTR	<i>Pars triangularis</i>
PCAL	Corteza pericalcarina
PoCG	Circunvolución post-central
PCG	Cíngulo posterior
PrCG	Circunvolución precentral
PCU	Precúneo
RACG	Cíngulo rostral anterior
RMFG	Circunvolución frontal rostral medio
SFG	Circunvolución frontal superior
SPG	Circunvolución parietal superior
STG	Circunvolución temporal superior
SMG	supramarginal
FP	Polo frontal
TP	Polo temporal
TTG	Circunvolución temporal transverso
INS	Ínsula
CER	Cerebelo
TH	Tálamo
CA	Caudado
PU	Putamen
PA	Pálido
HI	Hipocampo
AM	Amígdala
AC	Área accumbens

TABLA B.1: *Listado de regiones corticales y subcorticales seleccionadas del atlas Desikan-Killiany.*

B.2. Atlas AAL

El Atlas AAL forma parte de la plataforma de análisis SPM implementada en el *software* Matlab [125]. En esta Tesis se empleó especialmente para el estudio funcional del cerebro humano, en particular las regiones: ínsula, Circunvolución posterior cingulado,

precúneo, hipocampo y el Circunvolución frontal medial. Los resultados obtenidos a partir de este atlas se encuentran en la Sección 5.5 y en la Fig. 5.22.

Etiqueta	Nombre en español
PreCG	Circunvolución precentral
SFGdor	Circunvolución frontal superior, dorso-lateral
ORBsup	Circunvolución frontal superior, parte orbital
MFG	Circunvolución frontal medial
ORBmid	Circunvolución frontal medio, parte orbital
IFGoperc	Circunvolución frontal inferior, parte opercular
IFGtriang	Circunvolución frontal inferior, parte triangular
ORBinf	Circunvolución frontal inferior, parte orbital
ROL	Opérculo Rolandic
SMA	Área motora suplementaria
OLF	Corteza olfatoria
SFGmed	Circunvolución frontal superior, medial
ORBsupmed	Circunvolución frontal superior, orbital medial
REC	Circunvolución recto
INS	Ínsula
ACG	Circunvoluciones anteriores cingulado y paracingulado
MCG	Circunvoluciones medianos cingulado y paracingulado
PCG	Circunvolución posterior cingulado
HI	Hipocampo
PHG	Circunvolución parahipocampal
AMYG	Amígdala
CAL	Fisura calcarina y corteza circundante
CUN	Cúneo
LING	Circunvolución lingual
SOG	Circunvolución occipital superior
MOG	Circunvolución occipital medio
IOG	Circunvolución occipital inferior
FFG	Circunvolución fusiforme
PoCG	Circunvolución postcentral
SPG	Circunvolución parietal superior
IPL	Circunvolución parietal inferior, sin ANG ni SMG
SMG	Circunvolución supramarginal
ANG	Circunvolución angular
PCU	Precúneo
PCL	Lóbulo paracentral
CAU	Núcleo caudado
PUT	Núcleo putamen
PAL	Núcleo pálido

THA	Tálamo
HES	Circunvolución de Heschl
STG	Circunvolución temporal superior
TPOsup	Polo temporal: Circunvolución temporal superior
MTG	Circunvolución temporal medio
TPOmid	Polo temporal: Circunvolución temporal medio
ITG	Circunvolución temporal inferior

TABLA B.2: *Regiones corticales y subcorticales del Atlas AAL.*

B.3. Atlas Morel del Tálamo

La región semilla utilizada para el estudio de los mapas de FC del tálamo anterodorsal (TAD) pertenece al Atlas talámico de Morel [91, 92]. Este atlas particiona el tálamo en 37 sub-regiones con el fin de mejorar su definición y la precisión en la aplicación de técnicas de neuroimágenes. Los resultados de su utilización se presentan en la Sección 5.5 y en la Fig. 5.21.

Etiqueta	Nombre en español
AD	Núcleo anterodorsal
AM	Núcleo anteromedial
AV	Núcleo anteroventral
CeM	Núcleo medial central
CL	Núcleo lateral central
CM	Núcleo mediano centro
Hb	Núcleo habenular
LD	Núcleo dorso lateral
LG	Núcleo geniculado lateral
Li	Núcleo limitante
LP	Núcleo posterior lateral
MDmc	Núcleo mediodorsal, división magnocelular
MDpc	Núcleo mediodorsal, división parvocelular
MGN	Núcleo geniculado medial
MTT	Tracto mamilotalámico
MV	Núcleo medioventral
Pf	Núcleo parafascicular
Po	Núcleo posterior
PuA	Pulvinar anterior
PuI	Pulvinar inferior
PuL	Pulvinar lateral
PuM	Pulvinar medial

Pv	Núcleos paraventriculares
RN	Núcleo rojo
SG	Núcleo supragenicolado
SPf	Núcleo subparafascicular
STh	Núcleo subtalámico
VAmc	Núcleo anterior ventral, división magnocelular
VAPc	Núcleo anterior ventral, división parvocelular
VLa	Núcleo anterior lateral ventral
VLpd	Núcleo posterior lateral ventral, división dorsal
VLpv	Núcleo posterior lateral ventral, división ventral
VM	Núcleo medial ventral
VPI	Núcleo inferior posterior ventral
VPLa	Núcleo lateral posterior ventral, división anterior
VPLp	Núcleo lateral posterior ventral, división posterior
VPM	Núcleo medial posterior ventral

TABLA B.3: Parcelación del Tálamo del Atlas Morel. En esta Tesis sólo se utilizó la parcela antero-dorsal.

Bibliografía

- [1] D. Le Bihan, “Looking into the functional architecture of the brain with diffusion mri,” *Nature reviews neuroscience*, vol. 4, no. 6, pp. 469–480, 2003.
- [2] S. Mori, B. J. Crain, V. P. Chacko, and P. C. Van Zijl, “Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging,” *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, vol. 45, no. 2, pp. 265–269, 1999.
- [3] B. Jeurissen, M. Descoteaux, S. Mori, and A. Leemans, “Diffusion mri fiber tractography of the brain,” *NMR in Biomedicine*, vol. 32, no. 4, p. e3785, 2019.
- [4] E. Bullmore and O. Sporns, “Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems,” *Nature reviews neuroscience*, vol. 10, no. 3, pp. 186–198, 2009.
- [5] D. J. Watts and S. H. Strogatz, “Collective dynamics of ‘small-world’ networks,” *nature*, vol. 393, no. 6684, pp. 440–442, 1998.
- [6] D. A. Raffelt, J.-D. Tournier, R. E. Smith, D. N. Vaughan, G. Jackson, G. R. Ridgway, and A. Connelly, “Investigating white matter fibre density and morphology using fixel-based analysis,” *Neuroimage*, vol. 144, pp. 58–73, 2017.
- [7] R. W. Brown, Y.-C. N. Cheng, E. M. Haacke, M. R. Thompson, and R. Venkatesan, *Magnetic resonance imaging: physical principles and sequence design*. John Wiley & Sons, 2014.
- [8] D. Le Bihan, E. Breton, D. Lallemand, P. Grenier, E. Cabanis, and M. Laval-Jeantet, “Mr imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders.,” *Radiology*, vol. 161, no. 2, pp. 401–407, 1986.
- [9] J. E. Tanner and E. O. Stejskal, “Restricted self-diffusion of protons in colloidal systems by the pulsed-gradient, spin-echo method,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 49, no. 4, pp. 1768–1777, 1968.
- [10] E. L. Hahn, “Spin echoes,” *Physical review*, vol. 80, no. 4, p. 580, 1950.

- [11] E. O. Stejskal and J. E. Tanner, "Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient," *The journal of chemical physics*, vol. 42, no. 1, pp. 288–292, 1965.
- [12] D. Le Bihan, J.-F. Mangin, C. Poupon, C. A. Clark, S. Pappata, N. Molko, and H. Chabriat, "Diffusion tensor imaging: concepts and applications," *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 13, no. 4, pp. 534–546, 2001.
- [13] P. B. Kingsley, "Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part i. tensors, rotations, and eigenvectors," *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, vol. 28, no. 2, pp. 101–122, 2006.
- [14] P. B. Kingsley, "Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part ii. anisotropy, diffusion-weighting factors, and gradient encoding schemes," *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, vol. 28, no. 2, pp. 123–154, 2006.
- [15] P. J. Basser, J. Mattiello, and D. LeBihan, "Mr diffusion tensor spectroscopy and imaging," *Biophysical journal*, vol. 66, no. 1, pp. 259–267, 1994.
- [16] D. Alexander, G. Barker, and S. Arridge, "Detection and modeling of non-gaussian apparent diffusion coefficient profiles in human brain data," *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 48, no. 2, pp. 331–340, 2002.
- [17] L. R. Frank, "Anisotropy in high angular resolution diffusion-weighted mri," *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 45, no. 6, pp. 935–939, 2001.
- [18] L. R. Frank, "Characterization of anisotropy in high angular resolution diffusion-weighted mri," *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 47, no. 6, pp. 1083–1099, 2002.
- [19] D. S. Tuch, T. G. Reese, M. R. Wiegell, N. Makris, J. W. Belliveau, and V. J. Wedeen, "High angular resolution diffusion imaging reveals intravoxel white matter fiber heterogeneity," *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 48, no. 4, pp. 577–582, 2002.
- [20] J.-D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, "Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion mri: non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution," *Neuroimage*, vol. 35, no. 4, pp. 1459–1472, 2007.
- [21] D. K. Jones and M. Cercignani, "Twenty-five pitfalls in the analysis of diffusion mri data," *NMR in Biomedicine*, vol. 23, no. 7, pp. 803–820, 2010.

- [22] C. A. Wheeler-Kingshott and M. Cercignani, “About “axial” and “radial” diffusivities,” *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 61, no. 5, pp. 1255–1260, 2009.
- [23] T. E. Behrens, H. J. Berg, S. Jbabdi, M. F. Rushworth, and M. W. Woolrich, “Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations: What can we gain?,” *Neuroimage*, vol. 34, no. 1, pp. 144–155, 2007.
- [24] B. Jeurissen, A. Leemans, J. Tournier, D. Jones, and J. Sijbers, “Estimating the number of fiber orientations in diffusion mri voxels: a constrained spherical deconvolution study,” in *International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM)*, p. 573, 2010.
- [25] J.-D. Tournier, S. Mori, and A. Leemans, “Diffusion tensor imaging and beyond,” *Magnetic resonance in medicine*, vol. 65, no. 6, p. 1532, 2011.
- [26] T. Hosey, G. Williams, and R. Ansorge, “Inference of multiple fiber orientations in high angular resolution diffusion imaging,” *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 54, no. 6, pp. 1480–1489, 2005.
- [27] J.-D. Tournier, F. Calamante, D. G. Gadian, and A. Connelly, “Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted mri data using spherical deconvolution,” *Neuroimage*, vol. 23, no. 3, pp. 1176–1185, 2004.
- [28] D. M. Healy Jr, H. Hendriks, and P. T. Kim, “Spherical deconvolution,” *Journal of Multivariate Analysis*, vol. 67, no. 1, pp. 1–22, 1998.
- [29] T. E. Behrens, M. W. Woolrich, M. Jenkinson, H. Johansen-Berg, R. G. Nunes, S. Clare, P. M. Matthews, J. M. Brady, and S. M. Smith, “Characterization and propagation of uncertainty in diffusion-weighted mr imaging,” *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 50, no. 5, pp. 1077–1088, 2003.
- [30] J.-D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, “Mrtrix: diffusion tractography in crossing fiber regions,” *International journal of imaging systems and technology*, vol. 22, no. 1, pp. 53–66, 2012.
- [31] R. Xue, P. C. van Zijl, B. J. Crain, M. Solaiyappan, and S. Mori, “In vivo three-dimensional reconstruction of rat brain axonal projections by diffusion tensor imaging,” *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 42, no. 6, pp. 1123–1127, 1999.
- [32] K. J. Friston, “Functional and effective connectivity: a review,” *Brain connectivity*, vol. 1, no. 1, pp. 13–36, 2011.
- [33] S. A. Huettel, A. W. Song, G. McCarthy, *et al.*, *Functional magnetic resonance imaging*, vol. 1. Sinauer Associates Sunderland, MA, 2004.

- [34] P. Erdős and A. Rényi, “On the evolution of random graphs,” *Publ. Math. Inst. Hung. Acad. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 17–60, 1960.
- [35] M. D. Humphries, K. Gurney, and T. J. Prescott, “The brainstem reticular formation is a small-world, not scale-free, network,” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 273, no. 1585, pp. 503–511, 2006.
- [36] R. Albert and A.-L. Barabási, “Statistical mechanics of complex networks,” *Reviews of modern physics*, vol. 74, no. 1, p. 47, 2002.
- [37] C. J. Honey, J.-P. Thivierge, and O. Sporns, “Can structure predict function in the human brain?,” *Neuroimage*, vol. 52, no. 3, pp. 766–776, 2010.
- [38] M. A. Koch, D. G. Norris, and M. Hund-Georgiadis, “An investigation of functional and anatomical connectivity using magnetic resonance imaging,” *Neuroimage*, vol. 16, no. 1, pp. 241–250, 2002.
- [39] D. Zhang, A. Z. Snyder, M. D. Fox, M. W. Sansbury, J. S. Shimony, and M. E. Raichle, “Intrinsic functional relations between human cerebral cortex and thalamus,” *Journal of neurophysiology*, vol. 100, no. 4, pp. 1740–1748, 2008.
- [40] K. E. Stephan, M. Tittgemeyer, T. R. Knösche, R. J. Moran, and K. J. Friston, “Tractography-based priors for dynamic causal models,” *Neuroimage*, vol. 47, no. 4, pp. 1628–1638, 2009.
- [41] D. S. Bassett and O. Sporns, “Network neuroscience,” *Nature neuroscience*, vol. 20, no. 3, pp. 353–364, 2017.
- [42] R. F. Betzel, A. Avena-Koenigsberger, J. Goñi, Y. He, M. A. De Reus, A. Griffa, P. E. Vértes, B. Mišić, J.-P. Thiran, P. Hagmann, *et al.*, “Generative models of the human connectome,” *Neuroimage*, vol. 124, pp. 1054–1064, 2016.
- [43] A. Avena-Koenigsberger, J. Goñi, R. Solé, and O. Sporns, “Network morphospace,” *Journal of the Royal Society Interface*, vol. 12, no. 103, p. 20140881, 2015.
- [44] M. Anctil, *Dawn of the neuron: The early struggles to trace the origin of nervous systems*. McGill-Queen’s Press-MQUP, 2015.
- [45] K. Jellinger, “Alzheimer 100—highlights in the history of alzheimer research,” *Journal of neural transmission*, vol. 113, no. 11, pp. 1603–1623, 2006.
- [46] A. Association *et al.*, “2018 alzheimer’s disease facts and figures,” *Alzheimer’s & Dementia*, vol. 14, no. 3, pp. 367–429, 2018.
- [47] G. Frisoni, C. Testa, F. Sabattoli, A. Beltramello, H. Soininen, and M. Laakso, “Structural correlates of early and late onset alzheimer’s disease: voxel based morphometric study,” *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, vol. 76, no. 1, pp. 112–114, 2005.

- [48] L. Mosconi, V. Berti, R. H. Swerdlow, A. Pupi, R. Duara, and M. de Leon, “Maternal transmission of alzheimer’s disease: prodromal metabolic phenotype and the search for genes,” *Human genomics*, vol. 4, no. 3, p. 170, 2010.
- [49] L. Mosconi, J. Murray, W. H. Tsui, Y. Li, N. Spector, A. Goldowsky, S. Williams, R. Osorio, P. McHugh, L. Glodzik, S. Vallabhajosula, and M. J. de Leon, “Brain imaging of cognitively normal individuals with 2 parents affected by late-onset ad,” *Neurology*, vol. 82, no. 9, pp. 752–760, 2014.
- [50] S. Lista, S. E. O’Bryant, K. Blennow, B. Dubois, J. Hugon, H. Zetterberg, and H. Hampel, “Biomarkers in sporadic and familial alzheimer’s disease,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 47, no. 2, pp. 291–317, 2015.
- [51] H. Braak and E. Braak, “Neuropathological staging of alzheimer-related changes,” *Acta neuropathologica*, vol. 82, no. 4, pp. 239–259, 1991.
- [52] M. Bobinski, M. De Leon, J. Wegiel, S. Desanti, A. Convit, L. Saint Louis, H. Rusinek, and H. Wisniewski, “The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in alzheimer’s disease,” *Neuroscience*, vol. 95, no. 3, pp. 721–725, 1999.
- [53] J. L. Whitwell, D. W. Dickson, M. E. Murray, S. D. Weigand, N. Tosakulwong, M. L. Senjem, D. S. Knopman, B. F. Boeve, J. E. Parisi, R. C. Petersen, *et al.*, “Neuroimaging correlates of pathologically defined subtypes of alzheimer’s disease: a case-control study,” *The Lancet Neurology*, vol. 11, no. 10, pp. 868–877, 2012.
- [54] G. B. Frisoni, N. C. Fox, C. R. Jack, P. Scheltens, and P. M. Thompson, “The clinical use of structural mri in alzheimer disease,” *Nature Reviews Neurology*, vol. 6, no. 2, pp. 67–77, 2010.
- [55] S. Rathore, M. Habes, M. A. Iftikhar, A. Shacklett, and C. Davatzikos, “A review on neuroimaging-based classification studies and associated feature extraction methods for alzheimer’s disease and its prodromal stages,” *NeuroImage*, vol. 155, pp. 530–548, 2017.
- [56] R. Mito, D. Raffelt, T. Dhollander, D. N. Vaughan, J.-D. Tournier, O. Salvado, A. Brodtmann, C. C. Rowe, V. L. Villemagne, and A. Connelly, “Fibre-specific white matter reductions in alzheimer’s disease and mild cognitive impairment,” *Brain*, vol. 141, no. 3, pp. 888–902, 2018.
- [57] L. Pini, M. Pievani, M. Bocchetta, D. Altomare, P. Bosco, E. Cavedo, S. Galluzzi, M. Marizzoni, and G. B. Frisoni, “Brain atrophy in alzheimer’s disease and aging,” *Ageing research reviews*, vol. 30, pp. 25–48, 2016.
- [58] E. Mak, S. Gabel, H. Mirette, L. Su, G. B. Williams, A. Waldman, K. Wells, K. Ritchie, C. Ritchie, and J. O’Brien, “Structural neuroimaging in preclinical

- dementia: from microstructural deficits and grey matter atrophy to macroscale connectomic changes,” *Ageing research reviews*, vol. 35, pp. 250–264, 2017.
- [59] B. B. Bendlin, M. L. Ries, E. Canu, A. Sodhi, M. Lazar, A. L. Alexander, C. M. Carlsson, M. A. Sager, S. Asthana, and S. C. Johnson, “White matter is altered with parental family history of alzheimer’s disease,” *Alzheimer’s & dementia*, vol. 6, no. 5, pp. 394–403, 2010.
- [60] Y. I. Sheline and M. E. Raichle, “Resting state functional connectivity in preclinical alzheimer’s disease,” *Biological psychiatry*, vol. 74, no. 5, pp. 340–347, 2013.
- [61] C. Sheng, M. Xia, H. Yu, Y. Huang, Y. Lu, F. Liu, Y. He, and Y. Han, “Abnormal global functional network connectivity and its relationship to medial temporal atrophy in patients with amnesic mild cognitive impairment,” *PloS one*, vol. 12, no. 6, p. e0179823, 2017.
- [62] C. Ballard and M. J. O’sullivan, “Cognitive and neuroimaging predictors of ad and stroke,” *Nature Reviews Neurology*, vol. 9, no. 11, pp. 605–606, 2013.
- [63] D. A. Loewenstein, R. E. Curiel, M. T. Greig, R. M. Bauer, M. Rosado, D. Bowers, M. Wicklund, E. Crocco, M. Pontecorvo, A. D. Joshi, *et al.*, “A novel cognitive stress test for the detection of preclinical alzheimer disease: discriminative properties and relation to amyloid load,” *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, vol. 24, no. 10, pp. 804–813, 2016.
- [64] E. H. During, R. Osorio, F. Elahi, L. Mosconi, and M. de Leon, “The concept of fdg-pet endophenotype in alzheimer’s disease,” *Neurological Sciences*, vol. 32, no. 4, pp. 559–569, 2011.
- [65] L. Mosconi, J. O. Rinne, W. H. Tsui, J. Murray, Y. Li, L. Glodzik, P. McHugh, S. Williams, M. Cummings, E. Pirraglia, *et al.*, “Amyloid and metabolic positron emission tomography imaging of cognitively normal adults with alzheimer’s parents,” *Neurobiology of aging*, vol. 34, no. 1, pp. 22–34, 2013.
- [66] E. M. Reiman, K. Chen, G. E. Alexander, R. J. Caselli, D. Bandy, D. Osborne, A. M. Saunders, and J. Hardy, “Correlations between apolipoprotein e $\epsilon 4$ gene dose and brain-imaging measurements of regional hypometabolism,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 102, no. 23, pp. 8299–8302, 2005.
- [67] B. Fischl, “Freesurfer,” *Neuroimage*, vol. 62, no. 2, pp. 774–781, 2012.
- [68] S. M. Smith, M. Jenkinson, M. W. Woolrich, C. F. Beckmann, T. E. Behrens, H. Johansen-Berg, P. R. Bannister, M. De Luca, I. Drobnjak, D. E. Flitney, *et al.*, “Advances in functional and structural mr image analysis and implementation as fsl,” *Neuroimage*, vol. 23, pp. S208–S219, 2004.

- [69] K. J. Friston, A. P. Holmes, K. J. Worsley, J.-P. Poline, C. D. Frith, and R. S. Frackowiak, “Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach,” *Human brain mapping*, vol. 2, no. 4, pp. 189–210, 1994.
- [70] A. P. Association *et al.*, *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®)*. American Psychiatric Pub, 2013.
- [71] M. F. Folstein, S. E. Folstein, and P. R. McHugh, ““mini-mental state”: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician,” *Journal of psychiatric research*, vol. 12, no. 3, pp. 189–198, 1975.
- [72] V. C. Hachinski, L. D. Iliff, E. Zilhka, G. H. Du Boulay, V. L. McAllister, J. Marshall, R. W. R. Russell, and L. Symon, “Cerebral blood flow in dementia,” *Archives of neurology*, vol. 32, no. 9, pp. 632–637, 1975.
- [73] R. S. Desikan, F. Ségonne, B. Fischl, B. T. Quinn, B. C. Dickerson, D. Blacker, R. L. Buckner, A. M. Dale, R. P. Maguire, B. T. Hyman, *et al.*, “An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on mri scans into gyral based regions of interest,” *Neuroimage*, vol. 31, no. 3, pp. 968–980, 2006.
- [74] B. Duarte-Abritta, M. F. Villarreal, C. Abulafia, D. Loewenstein, R. E. C. Cid, M. N. Castro, E. Surace, S.-M. Sánchez, D. E. Vigo, S. Vázquez, *et al.*, “Cortical thickness, brain metabolic activity, and in vivo amyloid deposition in asymptomatic, middle-aged offspring of patients with late-onset alzheimer’s disease,” *Journal of psychiatric research*, vol. 107, pp. 11–18, 2018.
- [75] J. Veraart, D. S. Novikov, D. Christiaens, B. Ades-Aron, J. Sijbers, and E. Fieremans, “Denoising of diffusion mri using random matrix theory,” *Neuroimage*, vol. 142, pp. 394–406, 2016.
- [76] J. L. Andersson and S. N. Sotiropoulos, “An integrated approach to correction for off-resonance effects and subject movement in diffusion mr imaging,” *Neuroimage*, vol. 125, pp. 1063–1078, 2016.
- [77] Y. Zhang, M. Brady, and S. Smith, “Segmentation of brain mr images through a hidden markov random field model and the expectation-maximization algorithm,” *IEEE transactions on medical imaging*, vol. 20, no. 1, pp. 45–57, 2001.
- [78] B. Jeurissen, J.-D. Tournier, T. Dhollander, A. Connelly, and J. Sijbers, “Multi-tissue constrained spherical deconvolution for improved analysis of multi-shell diffusion mri data,” *NeuroImage*, vol. 103, pp. 411–426, 2014.
- [79] T. Dhollander, D. Raffelt, and A. Connelly, “Unsupervised 3-tissue response function estimation from single-shell or multi-shell diffusion mr data without a co-registered t1 image,” in *ISMRM Workshop on Breaking the Barriers of Diffusion MRI*, vol. 5, p. 5, 2016.

- [80] J. D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, “Improved probabilistic streamlines tractography by 2nd order integration over fibre orientation distributions,” in *Proceedings of the international society for magnetic resonance in medicine*, vol. 1670, Ismrm, 2010.
- [81] R. E. Smith, J.-D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, “Sift2: Enabling dense quantitative assessment of brain white matter connectivity using streamlines tractography,” *Neuroimage*, vol. 119, pp. 338–351, 2015.
- [82] R. E. Smith, J.-D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, “Anatomically-constrained tractography: improved diffusion mri streamlines tractography through effective use of anatomical information,” *Neuroimage*, vol. 62, no. 3, pp. 1924–1938, 2012.
- [83] R. E. Smith, J.-D. Tournier, F. Calamante, and A. Connelly, “Sift: Spherical-deconvolution informed filtering of tractograms,” *Neuroimage*, vol. 67, pp. 298–312, 2013.
- [84] E. Conti, J. Mitra, S. Calderoni, K. Pannek, K. Shen, A. Pagnozzi, S. Rose, S. Maz-zotti, D. Scelfo, M. Tosetti, *et al.*, “Network over-connectivity differentiates autism spectrum disorder from other developmental disorders in toddlers: A diffusion mri study,” *Human brain mapping*, vol. 38, no. 5, pp. 2333–2344, 2017.
- [85] D. A. Raffelt, R. E. Smith, G. R. Ridgway, J.-D. Tournier, D. N. Vaughan, S. Rose, R. Henderson, and A. Connelly, “Connectivity-based fixel enhancement: Whole-brain statistical analysis of diffusion mri measures in the presence of crossing fibres,” *Neuroimage*, vol. 117, pp. 40–55, 2015.
- [86] J. Talairach and P. Tournoux, “Co-planar stereotaxic atlas of the human brain. 1988,” *Theime, Stuttgart, Ger*, vol. 270, no. 132, pp. 90128–5, 1988.
- [87] M. D. Fox and M. E. Raichle, “Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging,” *Nature reviews neuroscience*, vol. 8, no. 9, pp. 700–711, 2007.
- [88] M. J. Lowe and D. P. Russell, “Treatment of baseline drifts in fmri time series analysis,” *Journal of computer assisted tomography*, vol. 23, no. 3, pp. 463–473, 1999.
- [89] R. Turner, “Signal sources in bold contrast fmri,” in *Optical Imaging of Brain Function and Metabolism 2*, pp. 19–25, Springer, 1997.
- [90] X.-W. Song, Z.-Y. Dong, X.-Y. Long, S.-F. Li, X.-N. Zuo, C.-Z. Zhu, Y. He, C.-G. Yan, and Y.-F. Zang, “Rest: a toolkit for resting-state functional magnetic resonance imaging data processing,” *PloS one*, vol. 6, no. 9, p. e25031, 2011.

- [91] A. Morel, M. Magnin, and D. Jeanmonod, “Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus,” *Journal of Comparative Neurology*, vol. 387, no. 4, pp. 588–630, 1997.
- [92] A. Jakab, R. Blanc, E. Berenyi, and G. Székely, “Generation of individualized thalamus target maps by using statistical shape models and thalamocortical tractography,” *American journal of neuroradiology*, vol. 33, no. 11, pp. 2110–2116, 2012.
- [93] C.-G. Yan, B. Cheung, C. Kelly, S. Colcombe, R. C. Craddock, A. Di Martino, Q. Li, X.-N. Zuo, F. X. Castellanos, and M. P. Milham, “A comprehensive assessment of regional variation in the impact of head micromovements on functional connectomics,” *Neuroimage*, vol. 76, pp. 183–201, 2013.
- [94] H. J. Jo, Z. S. Saad, W. K. Simmons, L. A. Milbury, and R. W. Cox, “Mapping sources of correlation in resting state fmri, with artifact detection and removal,” *Neuroimage*, vol. 52, no. 2, pp. 571–582, 2010.
- [95] T. R. Oakes, T. Johnstone, K. O. Walsh, L. L. Greischar, A. L. Alexander, A. S. Fox, and R. J. Davidson, “Comparison of fmri motion correction software tools,” *Neuroimage*, vol. 28, no. 3, pp. 529–543, 2005.
- [96] M. P. van den Heuvel, O. Sporns, G. Collin, T. Scheewe, R. C. Mandl, W. Cahn, J. Goñi, H. E. H. Pol, and R. S. Kahn, “Abnormal rich club organization and functional brain dynamics in schizophrenia,” *JAMA psychiatry*, vol. 70, no. 8, pp. 783–792, 2013.
- [97] J. Zimmermann, P. Ritter, K. Shen, S. Rothmeier, M. Schirner, and A. R. McIntosh, “Structural architecture supports functional organization in the human aging brain at a regionwise and network level,” *Human brain mapping*, vol. 37, no. 7, pp. 2645–2661, 2016.
- [98] Y. Benjamini and Y. Hochberg, “Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing,” *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, vol. 57, no. 1, pp. 289–300, 1995.
- [99] C. Abulafia, D. Loewenstein, R. Curiel-Cid, B. Duarte-Abritta, S. M. Sánchez, D. E. Vigo, M. N. Castro, L. J. Drucaroff, S. Vázquez, G. Sevlever, *et al.*, “Brain structural and amyloid correlates of recovery from semantic interference in cognitively normal individuals with or without family history of late-onset alzheimer’s disease,” *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, vol. 31, no. 1, pp. 25–36, 2019.
- [100] C. Abulafia, L. Fiorentini, D. A. Loewenstein, R. Curiel-Cid, G. Sevlever, C. B. Nemeroff, M. F. Villarreal, D. E. Vigo, and S. M. Guinjoan, “Executive functioning in cognitively normal middle-aged offspring of late-onset alzheimer’s disease patients,” *Journal of psychiatric research*, vol. 112, pp. 23–29, 2019.

- [101] A. T. Beck, R. A. Steer, and G. Brown, “Beck depression inventory–ii,” *Psychological Assessment*, 1996.
- [102] O. Spreen, “Neurosensory center comprehensive examination for aphasia,” *Neuropsychological Laboratory*, 1977.
- [103] J. A. Matías-Guiu, R. E. Curiel, T. Rognoni, M. Valles-Salgado, M. Fernández-Matarrubia, R. Hariramani, A. Fernández-Castro, T. Moreno-Ramos, D. A. Loewenstein, and J. Matías-Guiu, “Validation of the spanish version of the lassl-l for diagnosing mild cognitive impairment and alzheimer’s disease,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 56, no. 2, pp. 733–742, 2017.
- [104] E. Crocco, R. E. Curiel, A. Acevedo, S. J. Czaja, and D. A. Loewenstein, “An evaluation of deficits in semantic cueing and proactive and retroactive interference as early features of alzheimer’s disease,” *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, vol. 22, no. 9, pp. 889–897, 2014.
- [105] D. N. Greve, D. H. Salat, S. L. Bowen, D. Izquierdo-Garcia, A. P. Schultz, C. Cattana, J. A. Becker, C. Svarer, G. M. Knudsen, R. A. Sperling, *et al.*, “Different partial volume correction methods lead to different conclusions: an 18f-fdg-pet study of aging,” *Neuroimage*, vol. 132, pp. 334–343, 2016.
- [106] S. M. Sánchez, B. Duarte-Abritta, C. Abulafia, G. De Pino, H. Bocaccio, M. N. Castro, G. E. Sevlever, G. A. Fonzo, C. B. Nemeroff, D. R. Gustafson, *et al.*, “White matter fiber density abnormalities in cognitively normal adults at risk for late-onset alzheimer’s disease,” *Journal of Psychiatric Research*, vol. 122, pp. 79–87, 2020.
- [107] S. M. Sánchez, C. Abulafia, B. Duarte-Abritta, M. de Guevara, M. N. Castro, L. Drucaroff, G. Sevlever, C. B. Nemeroff, D. E. Vigo, D. A. Loewenstein, *et al.*, “Failure to recover from proactive semantic interference and abnormal limbic connectivity in asymptomatic, middle-aged offspring of patients with late-onset alzheimer’s disease,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, vol. 60, no. 3, pp. 1183–1193, 2017.
- [108] C. A. Mallio, R. Schmidt, M. A. de Reus, F. Vernieri, L. Quintiliani, G. Curcio, B. Beomonte Zobel, C. C. Quattrocchi, and M. P. van den Heuvel, “Epicentral disruption of structural connectivity in alzheimer’s disease,” *CNS neuroscience & therapeutics*, vol. 21, no. 10, pp. 837–845, 2015.
- [109] J. Shao, N. Myers, Q. Yang, J. Feng, C. Plant, C. Böhm, H. Förstl, A. Kurz, C. Zimmer, C. Meng, *et al.*, “Prediction of alzheimer’s disease using individual structural connectivity networks,” *Neurobiology of aging*, vol. 33, no. 12, pp. 2756–2765, 2012.

- [110] D. S. Bassett and E. Bullmore, “Small-world brain networks,” *The Neuroscientist*, vol. 12, no. 6, pp. 512–523, 2006. PMID: 17079517.
- [111] C. C. Hilgetag and A. Goulas, “Is the brain really a small-world network?,” *Brain Structure and Function*, vol. 221, no. 4, pp. 2361–2366, 2016.
- [112] S. M. Smith, M. Jenkinson, H. Johansen-Berg, D. Rueckert, T. E. Nichols, C. E. Mackay, K. E. Watkins, O. Ciccarelli, M. Z. Cader, P. M. Matthews, *et al.*, “Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data,” *Neuroimage*, vol. 31, no. 4, pp. 1487–1505, 2006.
- [113] T. Dhollander, A. Clemente, M. Singh, F. Boonstra, O. Civier, J. Duque, N. Egorova, P. Enticott, I. Fuelscher, S. Gajamange, S. Genc, E. Gottlieb, C. Hyde, P. Imms, C. Kelly, M. Kirkovski, S. Kolbe, X. Liang, A. Malhotra, and K. Caeyenberghs, “Fixel-based analysis of diffusion mri: Methods, applications, challenges and opportunities,” 11 2020.
- [114] J. M. Ringman, J. O’Neill, D. Geschwind, L. Medina, L. G. Apostolova, Y. Rodriguez, B. Schaffer, A. Varpetian, B. Tseng, F. Ortiz, *et al.*, “Diffusion tensor imaging in preclinical and presymptomatic carriers of familial alzheimer’s disease mutations,” *Brain*, vol. 130, no. 7, pp. 1767–1776, 2007.
- [115] B. Dubois, H. H. Feldman, C. Jacova, H. Hampel, J. L. Molinuevo, K. Blennow, S. T. DeKosky, S. Gauthier, D. Selkoe, R. Bateman, *et al.*, “.advancing research diagnostic criteria for alzheimer’s disease: The iwg-2 criteria.”: Correction.,” 2014.
- [116] T. J. Montine, C. H. Phelps, T. G. Beach, E. H. Bigio, N. J. Cairns, D. W. Dickson, C. Duyckaerts, M. P. Frosch, E. Masliah, S. S. Mirra, *et al.*, “National institute on aging–alzheimer’s association guidelines for the neuropathologic assessment of alzheimer’s disease: a practical approach,” *Acta neuropathologica*, vol. 123, no. 1, pp. 1–11, 2012.
- [117] S. Laatu, A. Revonsuo, H. Jäykkä, R. Portin, and J. Rinne, “Visual object recognition in early alzheimer’s disease: deficits in semantic processing,” *Acta Neurologica Scandinavica*, vol. 108, no. 2, pp. 82–89, 2003.
- [118] G. Coughlan, P. Zhukovsky, V. Puthusserypady, R. Gillings, A.-M. Minihane, D. Cameron, and M. Hornberger, “Functional connectivity between the entorhinal and posterior cingulate cortices underpins navigation discrepancies in at-risk alzheimer’s disease,” *Neurobiology of Aging*, vol. 90, pp. 110–118, 2020.
- [119] L. Wang, C. M. Roe, A. Z. Snyder, M. R. Brier, J. B. Thomas, C. Xiong, T. L. Benzinger, J. C. Morris, and B. M. Ances, “Alzheimer disease family history impacts resting state functional connectivity,” *Annals of Neurology*, vol. 72, no. 4, pp. 571–577, 2012.

- [120] S. S. Bassett, D. M. Yousem, C. Cristinzio, I. Kusevic, M. A. Yassa, B. S. Caffo, and S. L. Zeger, “Familial risk for alzheimer’s disease alters fmri activation patterns,” *Brain*, vol. 129, no. 5, pp. 1229–1239, 2006.
- [121] J. Xuereb, R. Perry, J. Candy, E. Perry, and J. BONHAM, “Nerve cell loss in the thalamus in alzeheimer’s disease and parkinson’s disease,” *Brain*, vol. 114, no. 3, pp. 1363–1379, 1991.
- [122] R. Zhang, R. Shao, G. Xu, W. Lu, W. Zheng, Q. Miao, K. Chen, Y. Gao, Y. Bi, L. Guan, *et al.*, “Aberrant brain structural–functional connectivity coupling in euthymic bipolar disorder,” *Human brain mapping*, vol. 40, no. 12, pp. 3452–3463, 2019.
- [123] G. L. Baum, Z. Cui, D. R. Roalf, R. Ciric, R. F. Betzel, B. Larsen, M. Cieslak, P. A. Cook, C. H. Xia, T. M. Moore, K. Ruparel, D. J. Oathes, A. F. Alexander-Bloch, R. T. Shinohara, A. Raznahan, R. E. Gur, R. C. Gur, D. S. Bassett, and T. D. Satterthwaite, “Development of structure–function coupling in human brain networks during youth,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 117, no. 1, pp. 771–778, 2020.
- [124] E. A. Crocco, D. A. Loewenstein, R. E. Curiel, N. Alperin, S. J. Czaja, P. D. Harvey, X. Sun, J. Lenchus, A. Raffo, A. Peñate, *et al.*, “A novel cognitive assessment paradigm to detect pre-mild cognitive impairment (preinci) and the relationship to biological markers of alzheimer’s disease,” *Journal of psychiatric research*, vol. 96, pp. 33–38, 2018.
- [125] N. Tzourio-Mazoyer, B. Landeau, D. Papathanassiou, F. Crivello, O. Etard, N. Delcroix, B. Mazoyer, and M. Joliot, “Automated anatomical labeling of activations in spm using a macroscopic anatomical parcellation of the mni mri single-subject brain,” *Neuroimage*, vol. 15, no. 1, pp. 273–289, 2002.