

# Estudio de la conectividad neuronal dinámica en la enfermedad de Alzheimer

P. Núñez<sup>1</sup>, J. Poza<sup>1</sup>, C. Gómez<sup>1</sup>, S.J. Ruiz<sup>1</sup>, A. Martín<sup>1</sup>, M. A. Tola-Arribas<sup>2</sup>, M. Cano<sup>3</sup>, R. Hornero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, pablo.nunez@gib.tel.uva.es

<sup>2</sup> Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

<sup>3</sup> Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

## Resumen

*El objetivo de este estudio fue caracterizar las propiedades dinámicas de la conectividad funcional de la actividad electroencefalográfica (EEG) espontánea en la enfermedad de Alzheimer (EA). Se calculó el módulo al cuadrado de la coherencia (MSCOH) de 62 enfermos con demencia debida a EA y 36 controles cognitivamente sanos. Se estimó la MSCOH en tramas de 30 segundos con ventanas no solapadas de diferentes longitudes (1, 2, 3, 5 y 10 segundos) y se estudió: (i) la variabilidad de la conectividad funcional entre cada par de electrodos en la banda alfa (8 - 13 Hz) en función del tamaño de la ventana; (ii) si las fluctuaciones observadas reflejaban cambios reales de conectividad funcional mediante un análisis de subrogación; y (iii) la estabilidad de la medida en función del tamaño de la ventana. Los resultados muestran una reducción significativa de la conectividad dinámica de los enfermos de EA respecto a los controles en las ventanas de 2 y 3 segundos. Asimismo, se concluye que parte de la variabilidad en la medida se podría deber a conectividad funcional dinámica.*

## 1. Introducción

La demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa caracterizada por la acumulación de proteínas beta-amiloide y tau [1]. La EA es la enfermedad neurodegenerativa más común y la principal causa de demencia [1]. Unas 900,000 personas sufren de demencia en España, lo que supone un coste aproximado de 22,000 millones de euros anuales [2].

Las redes cerebrales coordinadas temporalmente que sustentan las funciones cognitivas se vuelven más y más anormales a lo largo de la progresión de la EA, con aparición de trastornos en el procesamiento y transmisión de la información [1]. Esto se puede reflejar en alteraciones de los patrones de sincronización y conectividad neuronal asociados a esta patología [3]. La banda alfa es importante para la caracterización de las alteraciones de la EA en registros EEG de actividad basal, ya que esta banda sufre un decremento de potencia relativa en enfermos EA [1].

Los estudios de conectividad funcional (FC) suelen asumir que ésta es constante durante los registros en reposo. Sin embargo, es importante tener en cuenta las fluctuaciones espontáneas de la actividad cerebral, ya que ésta no es estacionaria durante el estado basal [4]. Por tanto, la cuantificación de los cambios dinámicos en las medidas de FC puede aportar información relevante sobre las propiedades de las redes cerebrales [5].

La mayor parte de estudios de conectividad funcional dinámica (dFC) existentes se han realizado sobre imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI) [5]. Resulta, por tanto, de gran interés el estudio de la dFC sobre registros electroencefalográficos (EEG). En el caso concreto de la EA, sólo un número reducido de estudios

ha abordado la caracterización de los patrones de la variabilidad de la FC [5].

Por todas estas razones, este trabajo presenta una metodología novedosa, que pretende obtener una primera aproximación a la dinámica de la FC en la EA. Concretamente, en este estudio se abordan las siguientes preguntas de investigación: (i) ¿existe conectividad dinámica en enfermos de EA y controles sanos en la banda alfa?; (ii) ¿difieren los patrones de dFC entre grupos?; (iii) ¿qué tamaño de ventana se necesita para obtener medidas de conectividad estables?

## 2. Materiales

### 2.1. Sujetos

Se analizó una población de 98 sujetos: 36 sujetos sanos de control (C) y 62 pacientes con EA. Existen diferencias significativas en edad ( $p$ -valor  $< 0.05$ , test de Kruskal-Wallis) pero no en sexo ( $p$ -valor de 0.4, test Chi-cuadrado). Los enfermos fueron diagnosticados según los criterios del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) [6]. Los controles eran personas de edad avanzada sin deterioro cognitivo, ni historial de enfermedades neurológicas o psiquiátricas. Ninguno de los participantes tomaba medicamentos que pudieran influir en los registros EEG.

Las características socio-demográficas de cada grupo se especifican en la tabla 1. Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario "Río Hortega" (Valladolid, España) aprobó el estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

### 2.2. Registros electroencefalográficos

Las señales EEG se registraron mediante un sistema EEG de 19 canales (XLTEK<sup>®</sup>, Natus Medical) en el Servicio de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario "Río Hortega" (Valladolid, España). La actividad EEG se adquirió en los electrodos F<sub>p1</sub>, F<sub>p2</sub>, F<sub>z</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>7</sub>, F<sub>8</sub>, C<sub>z</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub>, T<sub>6</sub>, P<sub>z</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>, O<sub>1</sub> y O<sub>2</sub>, con una frecuencia de muestreo de 200 Hz. Los sujetos permanecieron con los ojos cerrados, despiertos e inmóviles durante la adquisición del EEG. Para prevenir el adormecimiento se monitorizaron los registros EEG en tiempo real. Los episodios de somnolencia, artefactos oculares y actividad muscular fueron identificados y marcados durante el registro.

Se registraron 5 minutos de actividad EEG de cada sujeto siguiendo el protocolo descrito. A continuación se preprocesaron los registros en tres pasos: (i) filtrado con

un filtro de ranura (50 Hz) y uno paso-banda de ventana de Hamming ([1 70] Hz); (ii) segmentación en épocas de 30 segundos; y (iii) rechazo visual de artefactos, seleccionándose los 30 primeros segundos consecutivos sin artefactos por sujeto.

### 3. Métodos

#### 3.1. Estimación de la variabilidad

Existen una serie de medidas que analizan la consistencia entre los EEG de diferentes pares de electrodos con el objetivo de caracterizar la conectividad e interacciones entre regiones del cerebro [7]. La coherencia (COH) es una medida consolidada que aúna información de magnitud y de fase. Se define como [7]:

$$COH_{xy}(f) = \frac{S_{XY}(f)}{\sqrt{P_X(f)P_Y(f)}} \quad (1)$$

donde  $S_{XY}$  es el espectro cruzado de las señales  $X$  e  $Y$ , y  $P_X$  y  $P_Y$  son sus espectros de potencia.

La COH es un número complejo. Si calculamos el módulo al cuadrado de la COH obtenemos la MSCOH, que combina la aportación de la sincronía de magnitud y de fase de las dos señales. Se define como [7]:

$$MSCOH_{xy}(f) = |COH_{xy}(f)|^2 = \frac{|S_{XY}(f)|^2}{P_X(f)P_Y(f)} \quad (2)$$

#### 3.2. Protocolo

Con el objetivo de estudiar la dinámica de los patrones de acoplamiento de conectividad funcional, se segmentaron las tramas de 30 segundos mediante ventanas sin superposición. A continuación se calculó la MSCOH entre los 19 electrodos para cada ventana. Para calcular el espectro de potencia necesario para obtener la MSCOH en cada ventana, se usó el método de Welch con segmentos de 250 ms. Tras promediar los valores de MSCOH en la banda alfa (8-13 Hz) se obtuvo en primer lugar el valor promedio de MSCOH:

$$\mu_{MSCOH} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N MSCOH_{xy}^i \quad (3)$$

donde  $N$  es el número de ventanas total. Así como la desviación estándar de la MSCOH:

$$\kappa_{MSCOH} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (MSCOH_{xy}^i - \mu_{MSCOH})^2} \quad (4)$$

donde  $N$  es el número de ventanas total. Este procedimiento se realizó para ventanas de 1, 2, 3, 4, y 10 segundos.

Datos	EA	C
Número de sujetos	62	36
Edad (años)	79.9 ± 5.6	76.3 ± 3.9
Sexo (H:M)	26:36	12:24
Nivel de educación (A:B)	46:16	11:25
MMSE	20.9 ± 3.8	28.9 ± 1.2

**Tabla 1.** Características socio-demográficas de la base de datos. Valores medios ± desviación estándar. EA: enfermos de Alzheimer; C: controles; H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; MMSE: Mini-Mental State Examination.

#### 3.3. Detección de la conectividad dinámica

Es importante tener en cuenta que la presencia de fluctuaciones en las medidas de conectividad no es prueba suficiente de que exista dFC, ya que no se puede ignorar el hecho de que los valores observados de conectividad son estimaciones de los valores reales, debido a la naturaleza ruidosa de los registros [8]. Por ello, para decidir si las fluctuaciones observadas reflejan cambios reales de FC se debe realizar un test estadístico adecuado [8]. Un posible método consiste en la construcción de versiones subrogadas de las señales originales, para posteriormente calcular las mismas medidas de conectividad en las señales subrogadas. Tras ello, se determina si el valor de un estadístico obtenido con las señales originales tiene un  $z$ -valor significativo respecto a la distribución de los valores del mismo estadístico obtenidos con las versiones subrogadas de las señales [8]. En este estudio el estadístico usado fue la  $\kappa_{MSCOH}$  [8]. Es muy importante que las versiones subrogadas de las señales originales se generen bajo una hipótesis nula adecuada.

En el caso de dFC, las señales subrogadas deben construirse manteniendo la conectividad estática en cada instante temporal, pero eliminando la variación dinámica de la misma [8]. De esta forma, la hipótesis alternativa sería que existe conectividad dinámica y la hipótesis nula que no. Se construyeron 1000 versiones subrogadas de cada segmento EEG a partir de las señales originales mediante el método descrito por Prichard y Theiler [9]. Este método consiste en alterar aleatoriamente por igual la fase de los registros EEG de todos los canales en el dominio de la frecuencia, de forma que la conectividad estática en cada instante se mantenga pero la dinámica se elimine [8].

#### 3.4. Análisis estadístico

En primer lugar se realizó un análisis exploratorio para evaluar la distribución de los valores de  $\kappa_{MSCOH}$ . La normalidad se evaluó con el test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con el test de Levene. Los resultados mostraron que los valores de  $\kappa_{MSCOH}$  no cumplían las condiciones de los test paramétricos. Por ello se utilizó el test  $U$  de Mann-Whitney para evaluar las diferencias en  $\kappa$  entre grupos para cada par de electrodos.

Se usó el test de Friedman sobre los valores de  $\mu_{MSCOH}$  para detectar posibles efectos de la longitud de la ventana sobre la estabilidad las medidas de MSCOH. En caso que el test de Friedman mostrara un efecto significativo, se aplicó el test de Dunn de múltiples comparaciones para determinar la ventana en la cual las medidas de MSCOH comenzaban a ser estables, definida como la ventana de mayor longitud sin diferencias con ventanas más largas [10].

### 4. Resultados y discusión

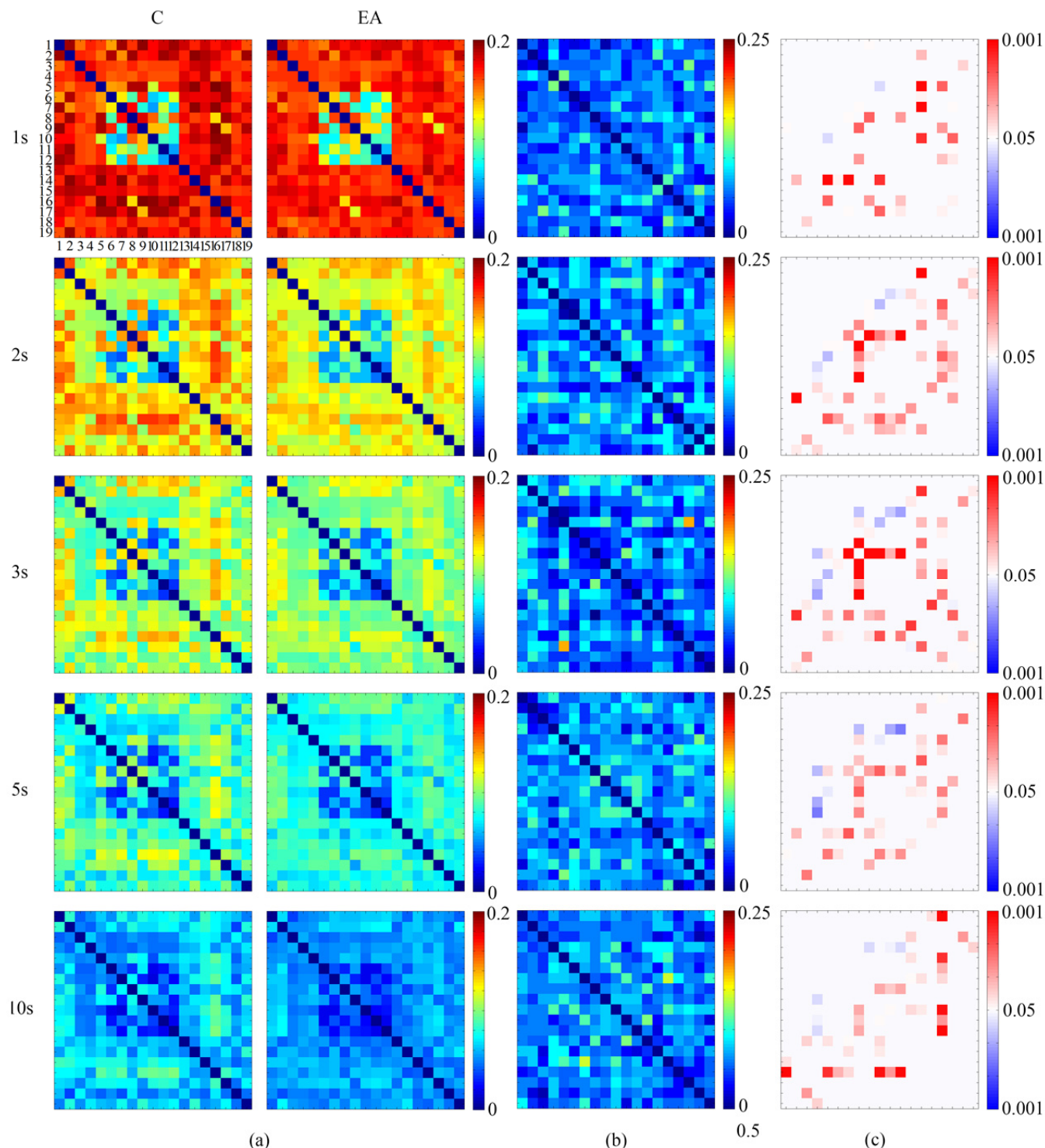
Se obtuvo la MSCOH para cada época entre todos los canales en la banda alfa (8-13 Hz). A continuación, se calculó  $\mu_{MSCOH}$  y  $\kappa_{MSCOH}$  entre cada par de electrodos para cada sujeto. Se obtuvo la MSCOH a su vez en 1000 versiones subrogadas de las tramas originales y se calculó la  $\kappa_{MSCOH}$  entre cada par de electrodos para cada una de ellas. A partir de la distribución de  $\kappa_{MSCOH}$  subrogadas se

determinó si  $\kappa_{MSCOH}$  en cada par de electrodos y para cada sujeto era significativa en base a los  $z$ -valores obtenidos.

#### 4.1. Patrones de conectividad dinámica

La figura 1 muestra las  $\kappa_{MSCOH}$  promedio de cada par de electrodos y para cada ventana, así como los resultados de la comparación de  $\kappa_{MSCOH}$  entre los dos grupos y el número total de sujetos en los que  $\kappa_{MSCOH}$  para cada par de

electrodos era significativa. Se observa que  $\kappa_{MSCOH}$  aumenta según disminuye el tamaño de la ventana, siendo además por lo general inferior en los enfermos de EA. Este resultado apoya lo obtenido en otros estudios en los que se observó una pérdida de irregularidad y variabilidad en la actividad neuronal asociada a la EA [3]. Por otra parte, el análisis de subrogación indica que en la mayoría de conexiones no se puede rechazar la hipótesis nula.



**Figura 1.** Análisis de dFC en MSCOH en la banda alfa para EA y C en función del tamaño de la ventana. (a)  $\kappa$  entre cada par de electrodos. (b) número de sujetos (en tanto por 1) en los que  $\kappa_{MSCOH}$  entre dos pares de canales se puede considerar significativa. (c)  $p$ -valores estadísticamente significativos en la comparación de  $\kappa_{MSCOH}$  entre grupos. Los valores en rojo indican valores mayores en los controles, mientras que los valores en azul indican valores mayores en los pacientes con EA. Correspondencia de canales: 1: C3, 2: C4, 3: O1, 4: O2, 5: Cz, 6: F3, 7: F4, 8: F7, 9: F8, 10: Fz, 11: Fp1, 12: Fp2, 13: P3, 14: P4, 15: Pz, 16: T3, 17: T4, 18: T5, 19: T6

#### 4.2. Diferencias entre grupos

El patrón de diferencias entre grupos es similar para todos los tamaños de ventana; sin embargo, para ventanas de 2 y 3 segundos los patrones muestran un mayor nivel de significación. Esto podría sugerir que en estas ventanas se encuentra el punto ideal necesario para extraer la máxima información posible sobre la dFC mediante la MSCOH. De manera similar, un estudio previo de fMRI encontró diferencias en el tiempo en que cada grupo modificaba el patrón modular de red (i.e., modificaba la configuración de grupos de nodos determinados conectados densamente) [11]. Se realizó una comparativa entre grupos de  $\mu_{MSCOH}$  y apenas se encontraron diferencias significativas. La interpretación de estos resultados puede ser múltiple. Es posible que exista dFC y que se refleje mejor en ventanas cortas, lo que podría sugerir que se debería reducir el tamaño de las mismas para explorar la dinámica de las redes neuronales [10]. Sin embargo, no se puede descartar que las estimaciones de la conectividad funcional son más ruidosas para tramas más cortas [10], lo que es apoyado por el pequeño número de sujetos en los que  $\kappa_{MSCOH}$  se puede considerar significativa. A pesar de ello, el hecho de que haya diferencias significativas entre grupos podría ser considerado suficiente prueba de la existencia de dFC, sobre todo porque no hay apenas diferencias para  $\mu_{MSCOH}$  [5].

#### 4.3. Estabilidad de la medida

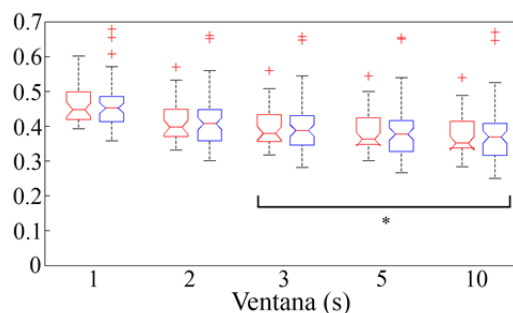
En la figura 2 se muestran los  $\mu_{MSCOH}$  promedio de todos los canales en cada grupo en función del tamaño de la ventana. En ambos grupos el test de Friedman indicó un efecto significativo. Para ambos grupos las medidas se estabilizan para ventanas de 3 segundos (test de Dunn), lo que podría indicar que esta ventana ofrece equilibrio de robustez y caracterización de la dFC. En un estudio previo se encontró que otras medidas de conectividad se estabilizaban para 12 y 6 segundos respectivamente [10]. Esto sugiere que a la hora de calcular dFC es importante estudiar la estabilidad de la medida de forma previa.

#### 4.4. Limitaciones y líneas futuras

Este estudio tiene algunas limitaciones. En primer lugar, sería conveniente aumentar la base de datos con más sujetos e intentar equilibrar el número de controles y pacientes con EA, así como eliminar las diferencias en edad. Una posible línea futura sería analizar la variabilidad de FC en otras bandas de frecuencia, con otras medidas y sobre segmentos de tamaños mayores de 30 segundos.

### 5. Conclusión

En este estudio se ha caracterizado la dFC de la actividad neuronal en la EA usando como medida la  $\kappa_{MSCOH}$  de la MSCOH. Los resultados sugieren que la  $\kappa_{MSCOH}$  observada en los registros EEG basales de ambos grupos depende de la longitud de la ventana sobre la que se calculen las medidas de FC. Por otra parte, se observó que las medidas de MSCOH se estabilizan para ventanas de 3 segundos. Estos resultados sugieren que el tamaño de las ventanas es un parámetro importante a tener en cuenta a la hora de medir dFC y muestra que ésta puede ser una línea de investigación prometedora para la ayuda al diagnóstico de la EA mediante EEG.



**Figura 2.**  $\mu_{MSCOH}$  en controles (azul) y pacientes con EA (rojo) en función del tamaño de la ventana. \*: ventanas estables según el test de Dunn.

### Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, el proyecto ‘Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer’ (Programa de cooperación inter-regional V-A España-Portugal POCTEP 2014-2020) de la Comisión Europea y FEDER, y el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación y FEDER. P. Núñez y S. J. Ruiz disfrutaban de una beca predoctoral cofinanciada por la Junta de Castilla y León y FEDER.

### Referencias

- [1] C. Babiloni *et al.*, “Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer’s disease as revealed by resting state EEG rhythms,” *Int. J. Psychophysiol.*, 103: 88–102, 2015.
- [2] Economist Intelligence Unit, “Assessing the Socioeconomic Impact of Alzheimer’s disease in Western Europe and Canada,” 2017.
- [3] J. Poza *et al.*, “Spatio-Temporal fluctuations of neural dynamics in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease,” *Curr. Alzheimer Res.*, 1: 1–14, 2017.
- [4] E. C. A. Hansen *et al.*, “Functional connectivity dynamics: Modeling the switching behavior of the resting state,” *Neuroimage*, 105: 525–535, 2015.
- [5] R. M. Hutchison *et al.*, “Dynamic functional connectivity: Promise, issues, and interpretations,” *Neuroimage*, 80: 360–378, 2013.
- [6] G. McKhann *et al.*, “The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease,” *Alzheimers Dement.*, 7(3): 263–269, 2011.
- [7] B. J. Roach y D. H. Mathalon, “Event-related EEG time-frequency analysis: An overview of measures and an analysis of early gamma band phase locking in schizophrenia,” *Schizophr. Bull.*, 34(5): 907–926, 2008.
- [8] R. Hindriks *et al.*, “Can sliding-window correlations reveal dynamic functional connectivity in resting-state fMRI?,” *Neuroimage*, 127: 242–256, 2016.
- [9] D. Prichard y J. Theiler, “Generating surrogate data for time series with several simultaneously measured variables,” *Phys. Rev. Lett.*, 73(7): 951–954, 1994.
- [10] M. Fraschini *et al.*, “The effect of epoch length on estimated EEG functional connectivity and brain network organisation,” *J. Neural Eng.*, 13(3): 36015, 2016.
- [11] D. T. Jones *et al.*, “Non-stationarity in the ‘resting brain’s’ modular architecture,” *PLoS One*, 7(6): 2012.