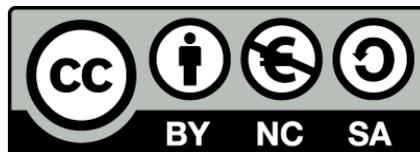




UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Estudio clínico y de neuroimagen de la función noradrenérgica como indicador precoz de deterioro cognitivo

Inés del Cerro San Idefonso



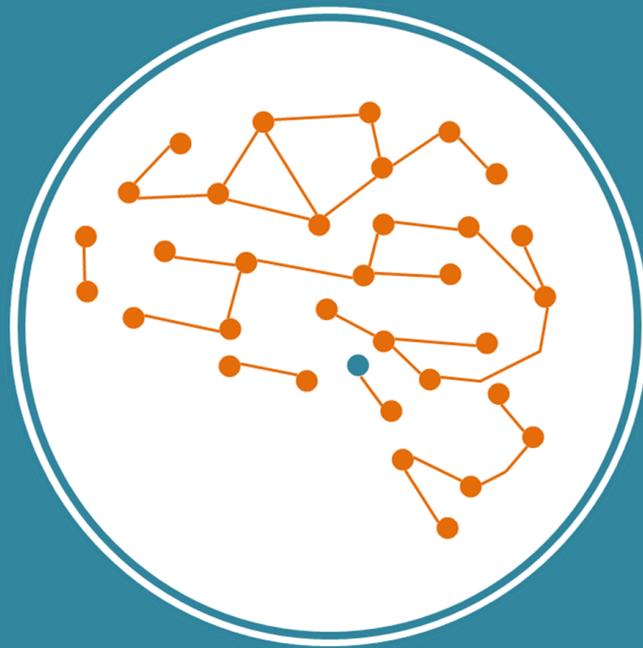
Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**

# Estudio clínico y de neuroimagen de la función noradrenérgica como indicador precoz de deterioro cognitivo

---



**Tesis doctoral**

**Inés del Cerro San Ildefonso**

**2020**









UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

**IDIBELL**  
Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

**Bellvitge**  
Hospital Universitari

# Estudio clínico y de neuroimagen de la función noradrenérgica como indicador precoz de deterioro cognitivo

---

---

Memoria de Tesis doctoral presentada por

**Inés del Cerro San Ildefonso**

Para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por:

**Dr. Carles Soriano Mas**

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge – IDIBELL

**Dr. José Manuel Menchón Magriña**

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge – IDIBELL

Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona

**Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional**

Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Medicina

Universidad de Barcelona

**Diciembre, 2020**







L'Hospitalet de Llobregat, 7 de Diciembre de 2020

Los directores:

**Dr. Carles Soriano Mas**

IP Laboratorio de Neuroimagen y Salud Mental

Servicio de Psiquiatría, Hospital Universitario de Bellvitge

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge – IDIBELL

Feixa Llarga s/n, 08907 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

E-mail: csoriano@idibell.cat. Telf.: +34 93 260 75 00 (ext.2889)

**Dr. José Manuel Menchón Magriñá**

Jefe de Servicio de Psiquiatría, Hospital Universitario de Bellvitge

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge – IDIBELL

Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona

Feixa Llarga s/n, 08907 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

E-mail: jmenchon@bellvitgehospital.cat. Telf.: +34 93 260 7922

CERTIFICAN que han guiado y supervisado la tesis doctoral titulada “**Estudio clínico y de Neuroimagen de la función noradrenérgica como indicador precoz de deterioro cognitivo**” que es presentada para la obtención del título de doctor por la candidata Inés del Cerro San Ildefonso. Los directores certifican que esta tesis cumple con todos requisitos para ser defendida.









Zacarías Cerezo, Pinturas del Paraíso (2017)

¿Qué quea ya de tuquio aquello?  
El compás, y que no farte.  
¿Qué ices, que no quiés venir?  
¿Que ya no es la feria de antes?  
¿Que no tiés ganas de fiestas?  
¿Qué estás llena de alifafes?  
¿Qué te da muncha tristeza  
Ver las cosas cambrearse,  
y que ya no tién los viejos  
qu'hacer ande haiga zagales?  
Tiés razón; tó en este mundo  
tié er sino de transformarse,  
y dende el micobrio al hombre  
y del piejo al alfante,  
tó es un vaivén de moléculas  
que les busta pasearse,

y van de la tierra al mar  
y de la estrella al tomate.  
Pero como tuiquio esto  
no pué arreglallo nadie  
mas que el Señor, y el es güeno  
y sabe lo que se hace,  
no hay que ser viejo a la juerza,  
u no ser ná. ¡Qué puñales!  
Saber ser viejo es la cencia  
mu deficil.

**Dos viejos Retestinaos** (extracto)  
**Francisco Frutos Rodriguez**  
Murcia, 1890-1949

A mi huerta murciana.





Gran Vía, Antonio López, A. (1974 – 1981)

Madrid, la otra mitad.

“Si no fuera por la música, habría más razones para volverse loco”

Piotr Ilich Tchaikovsky



## Agradecimientos

Esta tesis es la culminación de años de trabajo en los que se han sucedido momentos muy buenos, buenos y no tan buenos. Pero en cada uno de ellos siempre ha habido alguien al lado con quien poder alegrarme, que me podía ayudar, con quien podía contar o que simplemente estaba ahí para escucharme y apoyarme.

En primer lugar, quiero dar las gracias a Carles. Por darme la oportunidad de poder trabajar contigo, aprender tanto de ti en el terreno técnico, profesional y personal, por tu incansable trabajo, por animarme cuando algunas cosas no salían cómo deberían o como esperaba, por confiar en mí y darme la oportunidad de crear tantas cosas. En definitiva, por ser un soporte y ayuda fundamentales a lo largo de todos estos años. Gracias también por dejar que te vea más como un compañero y amigo que como jefe autoritario. Te espero en el piquesquina con unos paparajotes siempre que quieras.

Gracias también al Dr. Menchón y a todo el Departamento de Psiquiatría, por darme la oportunidad de poder trabajar con ellos, por ayudarme cuando lo he necesitado y por los sabios consejos y oportunidades que me han brindado. Quiero agradecer de una manera especial a la Dra. Virginia Soria. Gracias por tu tiempo, dedicación, porque eres una superwoman, por tantas y tantas horas de trabajo codo con codo literalmente entre risas y lágrimas. Esta tesis no hubiera sido igual sin ti, gracias por dejarme acercarme y aprender tanto de ti.

Un agradecimiento sincero a todos los participantes de los estudios que conforman esta tesis. En especial aquellas personas que participaron en nuestro estudio del Hospital de Bellvitge. Gracias por los conocimientos y experiencias de vida que compartisteis conmigo, por ser las grandísimas personas que sois y ayudarnos a que nuestro trabajo fuera más fácil por trataros. Me llevo un pedacito de cada uno de vosotros. Gracias.

Quiero dar las gracias a mis compañeros del Laboratorio de Neuroimagen por estar presentes: a Asier, Oren, Mònica, Nacho, Marta Cano, Andrés, Cristina, Romina, Víctor,

Ana, Pablo. A Marta Subirà porque fuiste mi primer contacto con el mundo de la Neuroimagen. De manera muy especial quiero dar las gracias a las Marías. María Picó y María Suñol, mil gracias por ser un continuo soporte, ejemplo a seguir, por todas las horas y momentos compartidos. No puedo imaginarme estos años de doctorado sin vosotras, mis amigas. Gracias por ser vosotras mismas desde el principio y por dejarme ser.

Thank you to Dr. Emmanuel A. Stamatakis. Thank you for your time, for giving me the opportunity to work with you and learn from you. Gracias a Laura Moreno por ser mi hada madrina en Cambridge, por guiarme en esos meses, por todo lo que me enseñaste y me sigues enseñando.

Gracias al Dr. Salvador M. Guinjoan. Quiero agradecerle la oportunidad que me diste de poder trabajar con vosotros en FLENI, pero también por convertirme en un amigo y mentor. Gracias por tu cercanía, por todo lo que me enseñaste y por las horas compartidas. También quiero agradecer a todos los compañeros de Buenos Aires, a Mirta, Mariana, Gabi, Hernán, Carolina, Bárbara, por dejarme ser parte de ellos durante mis meses en Buenos Aires. Un especial gracias a Stella, por ser un apoyo fundamental en este tiempo. Giane, mil gracias por todo el tiempo que compartiste conmigo, por ser luz, gracias por formar parte de mi vida y por dejarme formar parte de la tuya.

Esta tesis es el fruto no sólo de estos años de trabajo durante el doctorado sino de un proceso de aprendizaje y de experiencias que comienzan desde los primeros años de vida. Doy gracias por la suerte que he tenido de nacer en una familia tan maravillosa que ha permitido que me desarrolle. Ellos han sembrado, regado, han puesto tierra nueva, abonado, podado y quitado las malas hierbas desde el principio, y continúan haciéndolo. Gracias a mis padres y mi hermana por absolutamente todo, por vuestras enseñanzas, vuestro sacrificio, vuestro apoyo incondicional porque sois los mejores padres que uno podría desear, por tener una hermana pequeña que me ha enseñado como si fuera la mayor. A mis abuelos y tíos, por darme raíces.

Gracias a Harold, por ser luz en las alegrías y una luz aún más brillante en los momentos de oscuridad. Gracias por dejarme ser. Gracias por aparecer y por todo lo que haces por mí cada día. Doy gracias por tenerte a mi lado.

A K, A y S por estar siempre.

Gracias a mis amigos, a los de Barcelona, Almudena y Sheila por todos los momentos de estos años, por todo lo que hemos construido. A Jesús, incansable compañero de debates, conciertos y sacromontes. A mis amigos molinenses, a M<sup>a</sup> José, Domingo, Miguel, Natalia, Rubén, Vega, Mario, Carlos, Mari, Juanjo, Elisa. Porque siempre hacéis que quiera volver.



## Financiamiento

La presente tesis ha sido desarrollada en el marco del Programa de Doctorado en Medicina e Investigación Traslacional de la Universidad de Barcelona. Los trabajos incluidos en la tesis han sido desarrollados en el Laboratorio de Neuroimagen y Salud Mental ubicado en el Departamento de Psiquiatría del Hospital Universitario de Bellvitge. Esta unidad está ligada al Departamentos de Ciencias Clínicas de la Universidad de Barcelona y forma parte del grupo de investigación en Psiquiatría y Salud Mental del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL). Este es un grupo consolidado de investigación de la Generalitat de Cataluña (2017SGR1247) y forma parte del Centro de Investigación Biomédica en Red en Salud Mental (CIBERSAM) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

El financiamiento personal que ha permitido el desarrollo de esta tesis incluye: una beca predoctoral FI (2016FI\_B 00712) de la Generalitat de Cataluña – AGAUR, una beca de movilidad “Becas Iberoamérica: Santander Investigación (2017-2018)” del Banco Santander, y una beca de movilidad del Campus de Excelencia HUBc 2017 de la Universidad de Barcelona. Durante el desarrollo de la tesis se han realizado dos estancias internacionales: la primera de ellas de 3 meses en el Hospital Addenbrooke’s – Universidad de Cambridge bajo la supervisión del Dr. Emmanuel Stamatakis, y una segunda estancia de 4 meses en la Fundación FLENI – Universidad de Buenos Aires bajo la supervisión del Dr. Salvador M. Guinjoan.







# Tabla de contenido

Lista de Tablas y Figuras.....	27
Glosario.....	29
Composición de la tesis.....	35
1. Introducción.....	41
1.1. Breve historia de los trastornos neurocognitivos.....	41
1.2. Epidemiología, características clínicas y neuropsicológicas del TNC.....	45
1.3. Factores de riesgo y estadios precoces del proceso neurodegenerativo.....	49
1.4. Bases neurales de los procesos neurodegenerativos.....	54
1.5. Biomarcadores de los TNCs.....	63
1.6. Neuroimagen en TNCs y estadios premórbidos.....	68
1.7. Sistema noradrenérgico: implicación en el proceso neurodegenerativo.....	72
1.7.1. Locus coeruleus.....	72
1.7.2. Funciones de la noradrenalina.....	76
1.7.3. El LC en estadios premórbidos.....	79
1.7.4. Neuroimagen del LC y TNC.....	82
1.8. Base para la realización de los estudios.....	84
2. Hipótesis.....	91
3. Objetivos.....	97
3.1. Objetivo general.....	97
3.2. Objetivos específicos.....	97
4. Métodos.....	103
4.1. Participantes.....	103
4.2. Pruebas clínicas y neuropsicológicas.....	105
4.2.1. Pruebas clínicas.....	105
4.2.2. Evaluación neuropsicológica.....	106
4.3. Condiciones experimentales.....	108
4.3.1. Secuencia en estado de reposo.....	108
4.3.2. Tarea <i>oddball</i> o de detección de estímulo extraño.....	108
4.4. Adquisición y análisis de las imágenes de resonancia magnética.....	110
4.4.1. RM estructural.....	111
4.4.2. RM funcional.....	112
4.5. Análisis de datos clínicos, conductuales y neuropsicológicos.....	114

5. Resultados.....	119
5.1. Estudio 1 .....	119
5.2. Estudio 2 .....	133
6. Discusión.....	163
6.1. Resumen de los principales hallazgos .....	163
6.2. Alteraciones funcionales del LC en sujetos con un riesgo incrementado de desarrollar un TNC mayor.....	166
6.3. Patrones de conectividad con el LC alterados en sujetos con mayor riesgo de desarrollar un TNC mayor.....	170
5.4. Discusión general e implicaciones para la investigación futura .....	176
5.5. Limitaciones .....	183
7. Conclusiones .....	191
7.1. Conclusiones.....	191
7.2. Conclusions .....	193
8. Thesis summary.....	199
9. Referencias .....	221

# Lista de Tablas y Figuras

## Cajas

Caja 1	.....	45
Caja 2	.....	48

## Tablas

Tabla 1	.....	64
---------	-------	----

## Figuras

Figura 1	.....	46
Figura 2	.....	56
Figura 3	.....	60
Figura 4	.....	67
Figura 5	.....	109
Figura 6	.....	170
Figura 7	.....	174
Figura 8	.....	180



# Glosario

## #

**5-HT** Serotonina (5-hidroxi-triptamina)

## A

**A $\beta$**  Péptido  $\beta$ -amiloide  
**ACC** *Anterior cingulate cortex*  
**AD** *Alzheimer's disease*  
**aMCI** *Amnesic mild cognitive impairment*  
**ANOVA** *Analysis of Variance*  
**APA** *American Psychiatric Association*  
**APOE** Alipoproteína E  
**APP** *Amyloid precursor protein*

## B

**BDI** *Beck's Depression Inventory*  
**BOLD** *Blood-oxygenation-level dependent*

## C

**CCA** Corteza cingulada anterior  
**CCP** Corteza cingulada posterior  
**CDR** *Clinical Dementia Rating*  
**CPT** *Continuous Performance Test*  
**CF** Conectividad funcional  
**CS** Controles sanos  
**CSF** *Cerebrospinal fluid*

## D

**DA** Dopamina  
**DCL** Deterioro cognitivo leve  
**DCL-a** Deterioro cognitivo leve, tipo amnésico  
**DCL-na** Deterioro cognitivo leve, tipo no amnésico  
**DMN** *Default mode network*  
**DSM-5** *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition*

## E

<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer
<b>EAIT</b>	Enfermedad de Alzheimer de inicio tardío
<b>ECN</b>	<i>Executive control network</i>
<b>EPI</b>	<i>Echo-planar imaging</i>

## F

<b>FAST</b>	<i>Functional Assessment Staging</i>
<b>FC</b>	<i>Functional connectivity</i>
<b>FG</b>	<i>Fusiform gyrus</i>
<b>fMRI</b>	<i>Functional magnetic resonance imaging</i>

## G

<b>GDS</b>	<i>Geriatric Depression Scale</i>
<b>GF</b>	Giro fusiforme

## H

<b>HC</b>	<i>Healthy controls</i>
<b>HDRS</b>	<i>Hamilton Depression Rating Scale</i>
<b>H-EAIT</b>	Hijos de pacientes con Enfermedad de Alzheimer

## I

<b>ICC</b>	<i>Intrinsic connectivity contrast</i>
------------	--

## L

<b>LC</b>	Locus coeruleus
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquídeo
<b>LTM</b>	Lóbulo temporal medial

## M

<b>MDD</b>	<i>Major depressive disorder</i>
<b>MMSE</b>	<i>Mini-Mental State Examination</i>
<b>MRI</b>	<i>Magnetic resonance imaging</i>

## N

<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NCD</b>	<i>Neurocognitive disorder</i>
<b>NET</b>	<i>Norepinephrine transporter</i>
<b>NFT</b>	<i>Neurofibrillary tangle</i>
<b>NIA-AA</b>	<i>National Institute Aging and Alzheimer's Association</i>

## O

<b>O-LOAD</b>	<i>Offspring of late-onset Alzheimer's disease</i>
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ONFs</b>	Ovillos neurofibrilares

## P

<b>PET</b>	<i>Positron emission tomography</i>
<b>PET FDG</b>	PET fluorodeoxiglucosa
<b>PPI</b>	<i>Psychophysiological interactions</i>
<b>PVT</b>	<i>Psychomotor Vigilance Task</i>

## R

<b>RAVLT</b>	<i>Rey Auditory-Verbal Learning Test</i>
<b>RM</b>	Resonancia magnética
<b>RMf</b>	Resonancia magnética funcional

## S

<b>SCWT</b>	<i>Stroop Color and Word Test</i>
<b>SDMT</b>	<i>Symbol Digit Modalities Test</i>
<b>SKT</b>	<i>Syndrom Kurtz Test</i>
<b>SN</b>	<i>Saliency network</i>
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SPSS</b>	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>

## T

<b>Tau-F</b>	Tau fosforilada
<b>Tau-T</b>	Tau total
<b>TDM</b>	Trastorno depresivo mayor
<b>TMT</b>	<i>Trail Making Test</i>
<b>TNC</b>	Trastorno neurocognitivo
<b>TOL</b>	<i>Tower of London</i>

## V

**VBM** *Voxel-based morphometry*

## W

**WAIS-III** *Weschler Adult Intelligence Scale third edition*

**WAIS-IV** *Weschler Adult Intelligence Scale fourth edition*

**WMS-III** *Weschler Memory Scale third edition*





## Composición de la tesis

La presente tesis en formato de compendio de artículos incluye dos estudios ya publicados en revistas revisadas por pares. Se ha escrito de acuerdo con las especificaciones indicadas por la Universidad de Barcelona y es presentada con el objetivo de optar al título de Doctor Internacional. Los directores de esta tesis son el Dr. Carles Soriano Mas y el Dr. José Manuel Menchón Magriña.

Con respecto a la estructura de la tesis, después de una introducción general sobre el trastorno neurodegenerativo, las fases premórbidas de este y sus bases neurales, se exponen los fundamentos para la realización de la presente tesis, las hipótesis y objetivos y los métodos utilizados en cada uno de los trabajos recogidos. Los resultados de los dos artículos y en la parte final de la tesis se desarrollan una discusión general de los resultados de esta tesis, la evidencia previa y distintas líneas de investigación futura de interés, las conclusiones (también escritas en inglés), un resumen del conjunto de la tesis (también en lengua inglesa) y finalmente una lista de referencias.

La tesis consta de dos objetivos principales y dos artículos dirigidos a estos objetivos que se reportan en el siguiente orden:

1. Como primer objetivo nos marcamos estudiar la conectividad funcional en estado de reposo del tronco encefálico en una muestra de adultos de mediana edad asintomáticos con historia familiar de EA y un grupo de participantes sin historia familiar de EA:

**del Cerro, I.**, Villarreal, M. F., Abulafia, C., Duarte-Abritta, B., Sánchez, S. M., Castro, M. N., Bocaccio, H., Ferrer, I., Menchón, J. M., Sevlever, G., Nemeroff, C. B., Soriano-Mas, C., Guinjoan, S. M. Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease. *Journal of*

Psychiatric Research, (2020). 123, 81-88. doi: 10.1016/j.jpsychires.2020.01.018.

Factor de impacto: 3.745. Q1 (PSYCHIATRY – SSCI).

2. En segundo lugar, nos planteamos evaluar la conectividad funcional del locus coeruleus durante un paradigma de *oddball* visual en pacientes con trastorno depresivo mayor en adultez tardía, individuos con deterioro cognitivo leve tipo amnésico y controles sanos:

**del Cerro, I.**, Martínez-Zalacaín, I., Guinea-Izquierdo, A., Gascón-Bayarri, J., Viñas-Diez, V., Urretavizcaya, M., Naval-Baudin, P., Aguilera, C., Reñé-Ramírez, R., Ferrer, I., Menchón, J. M., Soria, V., Soriano-Mas, C. Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task. *Neuroimage: Clinical*, (2020), 28, 102482. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102482. Factor de impacto: 4.350. Q2 (NEUROIMAGING - SCIE)

Por último, cabe mencionar que todos los resultados de esta tesis han sido presentados en diversos congresos tanto nacionales como internacionales en formato póster y comunicación oral: OHBM Annual Meeting, 2019, Roma; XXII Congreso Nacional de Psiquiatría, 2019, Bilbao; 74<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Biological Psychiatry, 2019, Chicago; ECNP Workshop for Early Career Scientists in Europe, 2019, Niza; 31<sup>st</sup> ECNP Congress, 2018, Barcelona; 73<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Biological Psychiatry, 2018, Nueva York; Barcelona Young Neuroscientists Symposium, 2018, Barcelona; 30<sup>th</sup> ECNP Congress, 2017, París; 5<sup>ta</sup> edición del Laboratorio de Ideas de CIBERSAM, 2017, Santander; 68<sup>a</sup> Jornadas Catalanas de Neuropsicología, 2016, Barcelona.





# Introducción

---



# 1. Introducción

## 1.1. Breve historia de los trastornos neurocognitivos

En el periodo grecorromano encontramos ya las primeras descripciones de trastornos neurodegenerativos. Pitágoras, en el siglo VII a.C., dividió los ciclos de la vida en distintos estadios y expuso que los dos últimos, que denominó *senium* y comenzaban a partir de los 63 y de los 81 años, respectivamente, se caracterizaban por la decadencia del cuerpo y la regresión de las capacidades mentales (1). Sin embargo, tanto él como otros grandes pensadores griegos, como Hipócrates, Platón o Aristóteles, consideraron este declive mental como parte inevitable de la vejez (2). En el siglo II a.C., el filósofo romano Cicerón introduciría la idea de que no todos los ancianos son susceptibles de desarrollar “debilidad senil” y, además, señala que una vida mental activa prevenía, o al menos retrasaba, el declive intelectual (1). No sería hasta transcurridos cuatro siglos que Galeno incluyese la *morosis* (su término para la demencia) en su lista de trastornos mentales, señalando que la vejez es una de las situaciones en las que se podría observar, asumiendo, por tanto, que podría también aparecer en otros escenarios (1). Se separaba así el concepto de demencia de la etapa de vejez, y se proponía que existían diversas causas que la podían inducir, dotando a esta entidad de un carácter más patológico y reconociendo que, aunque la mayoría de casos aparecían en etapas avanzadas de la vida, era necesario establecer una distinción con el ciclo biológico humano natural. Las primeras apariciones del término *demencia* (del latín, estar fuera de la propia mente; etimológicamente, ‘de’, concerniente, “mens”, mente) datan del siglo XII, pero hasta el siglo XVII no se comenzarían a hacer distinciones entre los distintos tipos de demencia y a señalar las múltiples etiologías de este grupo de trastornos (relacionadas con la edad, factores congénitos, lesiones cerebrales, abuso de alcohol o drogas, etc.) (3). En 1776, William Cullen clasificaría por primera vez la *amentia senilis* (demencia senil) como una entidad médica propia (3).

## Introducción

---

A finales del siglo XIX y principios del XX, el comienzo de las observaciones, descripciones y clasificaciones sistemáticas, junto con el avance y aparición de nuevas técnicas, como la microscopía o la histoquímica, permitieron un rápido desarrollo en el conocimiento de las demencias y su etiología (1). Así, en 1907, Fischer describe la presencia de placas seniles extracelulares en el tejido encefálico de diferentes casos de demencia senil, a lo que Alois Alzheimer, ese mismo año, añadiría la observación de ovillos neurofibrilares (ONFs) en el citoplasma de las neuronas y la degeneración neuronal en el cerebro de una paciente (A.D.) que había sufrido un proceso neurodegenerativo, llevándole a describir una nueva patología (1,4). En los años sucesivos, distintos autores apoyaron a Alzheimer con descripciones neuropatológicas semejantes en pacientes con demencia, y, en 1910, la enfermedad de Alzheimer (EA) fue definitivamente respaldada como un subtipo de demencia cuando Kraepelin la recogió en su famosa clasificación de las enfermedades mentales (4). La EA se incluyó junto con otras patologías que también cursaban con deterioro cognitivo, como la enfermedad de Pick, la demencia vascular, la frontotemporal, etc., en una descripción del grupo de las demencias que prácticamente se extiende hasta nuestros días.

En la segunda mitad del siglo XX, el desarrollo de diferentes técnicas y disciplinas conllevó un formidable avance en el conocimiento del deterioro cognitivo, los distintos tipos de demencia y los procesos neurodegenerativos subyacentes. Así, la aparición del microscopio electrónico permitiría un estudio más profundo de la neuropatología, por ejemplo de las placas y ovillos propios de la EA (5–7). En los años 70, la EA sería identificada como la causa más prevalente de demencia y por primera vez se puede observar la atrofia cerebral en pacientes vivos gracias a la tomografía axial computerizada (8–10). Con el avance de la bioquímica se identifican la proteína tau y el péptido  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) como componentes principales de los ONFs y las placas, y se describe la presencia de hilos del neuropilo, otro de los cambios fisiopatológicos presentes en la EA (11–14). Posteriormente, se comenzaron a describir distintas mutaciones genéticas en los individuos con deterioro cognitivo y demencia, los principales factores de riesgo

para el desarrollo de cuadros demenciales, y se categorizaron los diferentes estadios neuropatológicos del deterioro cognitivo, la EA y otras demencias (15–22). Finalmente, en paralelo a todas las mejoras en técnicas de genética o biología molecular, la aparición de las técnicas modernas de Neuroimagen estructural hacia la década de los años 70, así como el desarrollo de las técnicas funcionales entre la década de los 80 y los 90, junto con el desarrollo de diferentes métodos de análisis de los datos de imagen cerebral, ha permitido estudiar la estructura y función del sistema nervioso de los individuos *in vivo*.

A nivel clínico, los trastornos neurocognitivos se pueden describir como un grupo heterogéneo de entidades que tienen por característica común la afectación de todas o alguna de las capacidades cognitivas y/o funcionales previamente adquiridas por el individuo (23). A pesar de que el deterioro cognitivo está presente durante el curso de muchos otros trastornos psiquiátricos, como por ejemplo la esquizofrenia o la depresión, se clasifican como trastornos neurocognitivos aquellos cuya sintomatología principal sea la afectación de estas funciones cognitivas (24). En su quinta revisión del *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales* (DSM-5, *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition*), la Asociación Americana de Psiquiatría (APA), con el fin de aunar en una misma entidad aquellas condiciones que suelen afectar a los individuos jóvenes (p. ej. deterioro cognitivo secundario a traumatismo craneoencefálico o infección por VIH), y, además, recoger como trastornos neurocognitivos aquellos casos en los que el individuo presenta deterioro de un solo dominio cognitivo, en el DSM-5 se reemplaza el clásico término *demencia* por el de *trastorno neurocognitivo* (23,24), y en él se engloban alteraciones como el delirium, el trastorno neurocognitivo (TNC) leve o el TNC mayor, junto con todos sus subtipos etiológicos (23).

La característica principal del delirium es la afectación de funciones cognitivas (principalmente, atención y conciencia, pero también otras como memoria, lenguaje,

## Introducción

---

habilidad visuoespacial o percepción), aunque a diferencia de otros TNCs, el delirium suele ser de corta duración (desde unas horas hasta aproximadamente una semana), y suele estar inducido por circunstancias como condiciones médicas (intervención quirúrgica, encefalopatía hepática, etc.), intoxicación por sustancias, síndrome de abstinencia, exposición a toxinas, etc. Sin embargo, el delirium puede también aparecer en el contexto de un TNC leve o mayor subyacente, ya que el proceso neurodegenerativo propio de un TNC puede predisponer al individuo a una mayor vulnerabilidad para la manifestación del delirium (23).

Tanto en el TNC leve como en el mayor aparece un deterioro cognitivo y funcional que tiene una duración superior a la del delirium. Tanto su forma leve como su forma mayor se pueden clasificar atendiendo a distintas etiologías: EA, degeneración lobular frontotemporal, enfermedad por cuerpos de Lewy, trastorno vascular, traumatismo craneoencefálico, abuso de sustancias/medicación, infección por VIH, enfermedad priónica, enfermedad de Parkinson o de Huntington, y otras condiciones médicas (23). Los criterios diagnósticos concretos dependerán en gran medida de la etiología subyacente al TNC. En la **Caja 1** se pueden consultar los criterios diagnósticos comunes al TNC leve y mayor en el DSM-5. El desarrollo y curso del trastorno será diferente atendiendo a la causa del TNC, pero aquellos debidos a trastornos neurodegenerativos (EA, degeneración frontotemporal, etc.) suelen presentar un inicio insidioso con una progresión gradual. Los signos neuropatológicos y los síntomas clínicos evolucionan en paralelo pero en trayectorias temporales diferenciadas, apareciendo los cambios biológicos incluso décadas antes de las primeras manifestaciones clínicas (25).

**Caja 1.** Criterios diagnósticos del DSM-5 para trastorno neurocognitivo leve y mayor

### Trastorno neurocognitivo leve

- A. Evidencias de un declive cognitivo moderado comparado con el nivel previo de rendimiento en uno o más dominios cognitivos (atención compleja, función ejecutiva, aprendizaje y memoria, lenguaje, habilidad perceptual motora o cognición social) basadas en:
  - 1. Preocupación en el propio individuo, en un informante que le conoce o en el clínico, porque ha habido un declive significativo en una función cognitiva, y
  - 2. Un deterioro modesto del rendimiento cognitivo, preferentemente documentado por un test neuropsicológica estandarizado o, en su defecto, por otra evaluación clínica cuantitativa.
- B. Los déficits cognitivos no interfieren en la capacidad de independencia en las actividades cotidianas (p.ej., conserva las actividades instrumentales complejas de la vida diaria, como pagar facturas o seguir los tratamientos, pero necesita hacer un mayor esfuerzo, o recurrir a estrategias de compensación o de adaptación).
- C. Los déficits cognitivos no ocurren exclusivamente en el contexto de un síndrome confusional.

Los déficits cognitivos no se explican mejor por otro trastorno mental (p.ej., trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).

### Trastorno neurocognitivo mayor

- A. Evidencias de un declive cognitivo significativo comparado con el nivel previo de rendimiento en uno o más dominios cognitivos (atención compleja, función ejecutiva, aprendizaje y memoria, lenguaje, habilidad perceptual motora o cognición social) basadas en:
  - 1. Preocupación en el propio individuo, en un informante que le conoce o en el clínico, porque ha habido un declive significativo en una función cognitiva, y
  - 2. Un deterioro substancial del rendimiento cognitivo, preferentemente documentado por un test neuropsicológico estandarizado o, en su defecto, por otra evaluación clínica cuantitativa.
- B. Los déficits cognitivos interfieren con la autonomía del individuo en las actividades cotidianas (es decir, por lo menos necesita asistencia con las actividades instrumentales complejas de la vida diaria, como pagar facturas o cumplir tratamientos).
- C. Los déficits cognitivos no ocurren exclusivamente en el contexto de un síndrome confusional.

Los déficits cognitivos no se explican mejor por otro trastorno mental (p.ej., trastorno depresivo mayor, esquizofrenia).

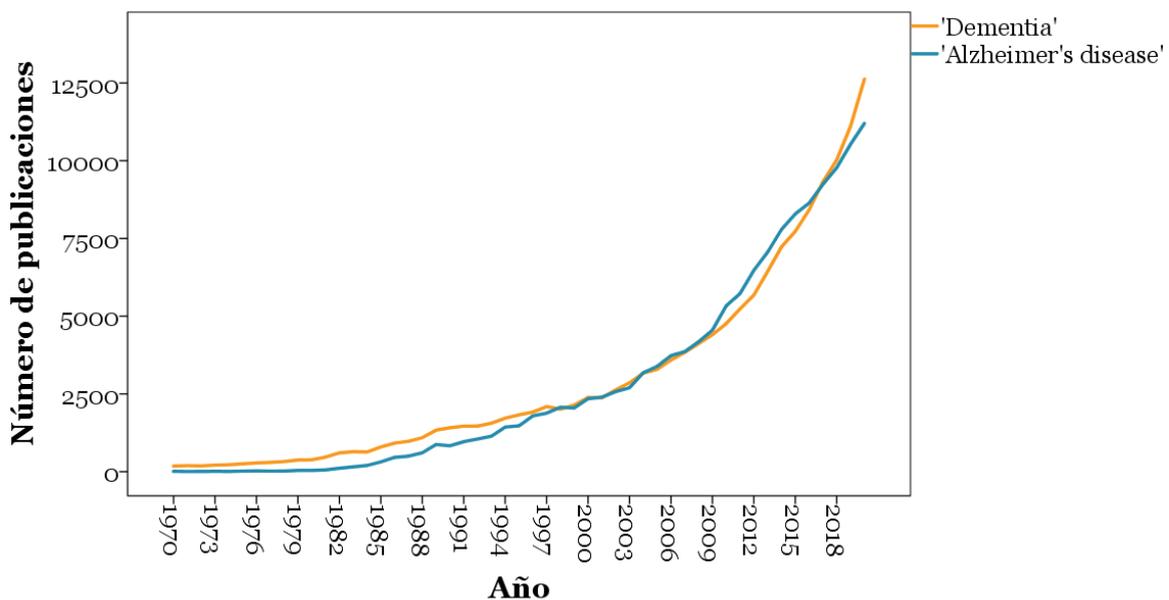
## 1.2. Epidemiología, características clínicas y neuropsicológicas del TNC

La **prevalencia** del TNC mayor se estima en entre un 5-10% en individuos mayores de 65 años y aumenta hasta más de un 30% en aquellos de 85 años o más (23). Este es uno de los grupos de trastornos más incapacitantes, que causan un incalculable sufri-

## Introducción

---

miento humano, tanto a los propios pacientes como a su entorno próximo, y que además supone un enorme coste social y económico a nuestras sociedades. En los próximos años, debido al aumento de la esperanza de vida y el consiguiente envejecimiento de la población, se prevé un espectacular aumento de los casos en todo el mundo (ver sección 1.8. *Base para la realización de los estudios*), lo que convierte a este grupo de trastornos en un problema urgente que necesita de investigación y soluciones reales, y prueba de ello son los datos de las publicaciones científicas al respecto en los últimos años (ver **Figura 1**).



**Figura 1.** Incremento del número de publicaciones relacionadas con los términos “*dementia*” (línea naranja) y “*Alzheimer’s disease*” (línea verde) desde 1970 hasta la actualidad. Fuente: Base de datos *PubMed*.

La EA es la principal causa de TNC tanto leve como mayor. Se estima que supone entre un 60-90% del total de casos de TNC en personas mayores de 65 años (23,26). Suele presentar un inicio insidioso, con una progresión gradual, y su forma de presentación más común es la amnésica, por lo que la memoria y el aprendizaje son los dominios cognitivos más afectados (los criterios diagnósticos para el TNC debido a EA en el DSM-5 pueden ser consultados en la **Caja 2**) (23,26,27). Sin embargo, pueden aparecer también otras variedades menos comunes como la no amnésica en la que las capacida-

des más afectadas serían otras diferentes de la memoria o el aprendizaje, p.ej. la variedad visuoespacial o la afasia progresiva logopélica (23,28,29). En cualquier caso, debido a la progresión de los cambios neuropatológicos y su propagación en el sistema nervioso central (SNC), conforme avanza el TNC el deterioro se torna cada vez más global afectando a todas las áreas y funciones psicológicas, pudiendo aparecer alteraciones en el lenguaje, desorientación en espacio, tiempo y/o persona, déficits atencionales, apraxias, alteraciones premotoras y síntomas motores, alteraciones gnósicas (agnosia, prosopagnosia, etc.), deterioro de funciones ejecutivas, etc. (30). Además de este **deterioro neuropsicológico**, se estima que aproximadamente un 80% de las personas con TNC debido a EA presenta síntomas neurológicos y psiquiátricos, sobre todo en los estadios más severos, que incluyen trastornos del estado de ánimo, como depresión y apatía, síntomas conductuales como agitación, agresividad o deambulación, ansiedad, trastornos relacionados con el impulso sexual, el apetito o el sueño, alteraciones de la personalidad, desinhibición, miedos injustificados, conductas de acumulación, e incluso síntomas psicóticos, como alucinaciones o delirios. (23,30). Este tipo de pacientes sufre repercusiones funcionales en el área laboral, social y personal de forma progresiva a lo largo del curso de la enfermedad, apareciendo ya en etapas avanzadas alteraciones en actividades muy básicas y síntomas neurológicos como incapacidad para la marcha, rigidez muscular generalizada, o problemas en la deglución, control de esfínteres o reflejos primarios (30).

Como comentábamos anteriormente, en los pacientes con EA el deterioro se percibe primeramente de forma más notable en la memoria de tipo episódico (23,27). A pesar de que la progresión de los signos fisiopatológicos en la EA todavía es bastante desconocida, el lóbulo temporal medial (LTM), concretamente el córtex transentorrinal (área 35 de Brodmann), es uno de los primeros sitios corticales en los que se han detectado inclusiones de ONFs (31). Esta región forma parte de la red cerebral de memoria episódica, por lo que no es de extrañar que este tipo de memoria sea una de las primeras funciones en verse mermadas en la EA (Braak & Braak, 1991). Este tipo de pacientes

presenta problemas tanto en el recuerdo libre como en el reconocimiento de la información previamente aprendida (27).

**Caja 2.** Criterios diagnósticos del DSM-5 para el trastorno neurocognitivo leve y mayor debido a Enfermedad de Alzheimer

### Trastorno neurocognitivos mayor o leve debido a enfermedad de Alzheimer

- A. Se cumplen los criterios de un trastorno neurocognitivo mayor o leve.
- B. Presenta un inicio insidioso y una progresión gradual del trastorno en uno o más dominios cognitivos (en el trastorno neurocognitivo mayor tienen que estar afectados por lo menos dos dominios).
- C. Se cumplen los criterios de la enfermedad de Alzheimer probable o posible, como sigue:  
Para el trastorno neurocognitivo mayor:  
Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer probable si aparece algo de lo siguiente; en caso contrario, debe diagnosticarse la enfermedad de Alzheimer posible.
  1. Evidencias de una mutación genética causante de la enfermedad de Alzheimer en los antecedentes familiares o en pruebas genéticas.
  2. Aparecen los tres siguientes:
    - a. Evidencias claras de un declive de la memoria y del aprendizaje, y por lo menos de otro dominio cognitivo (basada en una anamnesis detallada o en pruebas neuropsicológicas seriadas).
    - b. Declive progresivo, gradual y constante de la capacidad cognitiva sin mesetas prolongadas.
    - c. Sin evidencias de una etiología mixta (es decir, ausencia de cualquier otra enfermedad neurodegenerativa o cerebrovascular, otra enfermedad neurológica, mental o sistémica, o cualquier otra afección con probabilidades de contribuir al declive cognitivo).  
Para el trastorno neurocognitivo leve:  
Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer probable si se detecta una evidencia de mutación genética causante de la enfermedad de Alzheimer mediante una prueba genética o en los antecedentes familiares.  
Se diagnostica la enfermedad de Alzheimer posible si no se detecta ninguna evidencia de mutación genética causante de la enfermedad de Alzheimer mediante una prueba genética o en los antecedentes familiares, y aparecen los tres siguientes:
  1. Evidencias claras de declive de la memoria y el aprendizaje.
  2. Declive progresivo, gradual y constante de la capacidad cognitiva sin mesetas prolongadas.
  3. Sin evidencias de una etiología mixta (es decir, ausencia de cualquier otra enfermedad neurodegenerativa o cerebrovascular, otra enfermedad neurológica o sistémica, o cualquier otra afección con probabilidades de contribuir al declive cognitivo).
- D. La alteración no se explica mejor por una enfermedad cerebrovascular, otra enfermedad neurodegenerativa, los efectos de una sustancia o algún otro trastorno mental, neurológico o sistémico.

Conforme progresa el proceso neurodegenerativo de la EA desde la corteza transentorrinal hacia otras regiones del lóbulo temporal y posteriormente lóbulos prefrontales y otras áreas de asociación (estadios II-VI de Braak y Braak), distintas funciones neu-

ropsicológicas se van viendo deterioradas gradualmente (32) (la descripción de los estadios de Braak puede ser consultada en la sección *1.5. Bases neurales de los procesos neurodegenerativos*). Es el caso del lenguaje, en el que se aprecia un deterioro general y progresivo de la habilidad lingüística, con problemas de denominación, fluencia verbal y categorización semántica (27,33), o de las funciones ejecutivas, en las que encontraremos problemas de memoria de trabajo, flexibilidad, toma de decisiones o resolución de problemas (33,34). Las capacidades visuoespaciales han sido señaladas como uno de los dominios que sufren un mayor declive a lo largo del progreso de este trastorno. En un estudio longitudinal (35) en el que se siguió y evaluó neuropsicológicamente a un grupo de individuos inicialmente sanos hasta que algunos de ellos desarrollaron EA, se observó que la función visuoespacial era la afectada de manera más temprana, hasta 3 años antes del diagnóstico de la enfermedad, frente al deterioro de la memoria verbal que apareció tan solo un año antes del diagnóstico.

### 1.3. Factores de riesgo y estadios precoces del proceso neurodegenerativo

La **etiología de los TNCs** es muy variada. Las causas que contribuyen al desarrollo de cada uno de los subtipos de TNC han sido recurrentemente estudiadas. En el caso particular de la EA, en su variante más común, la forma esporádica o de inicio tardío (EAIT), que supone alrededor del 95% del total de casos de EA (36) y en la que los primeros síntomas clínicos suelen aparecer entorno a los 65 años, el comienzo del proceso neurodegenerativo comienza años e incluso décadas antes de la aparición de estos síntomas (37,38). Tras estudiar 2.332 cerebros sanos de individuos de entre 1 y 100 años, Braak et al., 2011 comprobaron que un 42% de los sujetos de entre 1 y 30 años presentaban inclusiones de proteína tau anormalmente hiperfosforilada en la región del tronco encefálico, principalmente en el locus coeruleus (LC). Además, todos los individuos analizados a partir de 31 años presentaban algún tipo de anomalía relacionada con

la proteína tau (tau hiperfosforilada o lesiones neurofibrilares, como ONFs o hilos del neuropilo) tanto en áreas corticales como subcorticales, y a partir de la quinta década aparecían depósitos de placas extracelulares de A $\beta$  en todo el encéfalo (39). En estudios *in vivo*, mediante la adquisición de imágenes de tomografía de emisión de positrones (PET, *positron emission tomography*), también se ha podido detectar la presencia de tau anormal en sujetos cognitivamente preservados tanto jóvenes como en adultez tardía, que además sigue el patrón de expansión y los estadios de los estudios neuropatológicos de Braak y Braak (40,41). Estas evidencias parecen indicar que la presencia de tau y A $\beta$  anormales en el SNC no resulta suficiente para el desarrollo de los signos y síntomas clínicos propios de un TNC.

A pesar de que en un principio el **riesgo genético** en los familiares de primer orden de pacientes con EAIT se estimó como no tan alto como en los casos de EA de inicio temprano o familiar, con el paso de los años la EAIT se ha ido asociando con distintos alelos (APP, IQCK, ADAM10, ACE, PSEN1, PSEN2, etc.) asociados principalmente a cuatro vías relacionadas con el metabolismo de A $\beta$ , el metabolismo lipídico, la inmunidad y respuesta inflamatoria, y la señalización celular (42–44), llegando a estimarse que hasta un 70% de los casos de EA son atribuibles a factores genéticos (45). Además, estudios de gemelos han llegado a predecir una heredabilidad de la EAIT de alrededor de un 80% (46). Hasta la fecha, la alipoproteína E (APOE) se ha señalado como el gen que puede conferir una susceptibilidad más importante a desarrollar EA (47,48). Concretamente, la APOE puede tener 3 tipos de alelos diferentes (APOE  $\epsilon$ 2, APOE  $\epsilon$ 3, APOE  $\epsilon$ 4), pero al presentarse un genotipo con al menos un alelo tipo 4, es decir  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 4,  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 4 o  $\epsilon$ 4/ $\epsilon$ 4, el riesgo de desarrollo de EA aumenta (49). Se estima que alguno de estos genotipos está presente en alrededor del 56-64% de los pacientes con EAIT (50–52). Además, en familiares de primer grado de pacientes con EAIT, el riesgo de desarrollo de EA se incrementa conforme más alelos tipo 4 presentan: de entre aquellos familiares directos que presentaron un genotipo APOE  $\epsilon$ 2/ $\epsilon$ 3 o  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3, un 20% desarro-

llaron EA; al presentar un alelo  $\epsilon_2/\epsilon_4$  o  $\epsilon_3/\epsilon_4$ , el 47% desarrolló EA; y un 91% de los  $\epsilon_4/\epsilon_4$  estuvo afectado (50). Este gen también influye en la edad de debut del TNC, siendo de 84 años de media en aquellos que no presentan ningún alelo  $\epsilon_4$ , de 75 años en sujetos con un solo alelo  $\epsilon_4$ , y de 68 años cuando se presentan los dos alelos  $\epsilon_4$  (50). El APOE  $\epsilon_4$  se relaciona con alteraciones en el proceso de eliminación de placas de A $\beta$ , y la subsecuente acumulación de las mismas (53,54). De igual manera, en los portadores de APOE $\epsilon_4$  la carga de tau es más alta, y además el APOE afecta a la patogénesis de tau y la neuroinflamación y neurodegeneración mediada por tau (55,56).

Además de la heredabilidad genética, han sido señalados como impulsores de la aparición de TNCs diversos **factores de riesgo modificables**, que en gran medida dependen del entorno social y familiar del individuo. Distintos metaanálisis y revisiones sistemáticas aportan evidencia de que la reserva cognitiva (entendida como los años de educación formal, la ocupación y el nivel de actividad mental a lo largo de la vida), la actividad física y el ejercicio, así como la obesidad y sus consecuencias metabólicas negativas (p.ej. diabetes mellitus tipo 2), representan los componentes variables más influyentes en el desarrollo de TNCs (57–63). De hecho, sujetos con niveles anormales de A $\beta_{42}$ , uno de los biomarcadores validados de TNCs (ver [1.5. Biomarcadores de TNCs](#)), pero con altos niveles de reserva cognitiva muestran una mayor resistencia al avance del proceso neurodegenerativo en regiones corticales y subcorticales, ya que muestran mayor preservación del volumen estructural de estas áreas (64). El consumo de alcohol y tabaco también ha sido identificado como factor de riesgo para el desarrollo de TNCs (45,65), aunque todavía existe cierta controversia en la literatura al respecto (61,66,67).

**Otras condiciones médicas tratables** como la diabetes, los traumatismos craneoencefálicos, los trastornos del sueño (apnea obstructiva, insomnio o síndrome de piernas inquietas), o distintos factores de riesgo de origen cardiovascular, como la hipertensión o la hipotensión arterial en la mediana edad, los accidentes cerebrovasculares, el infarto de miocardio, las enfermedades de las arterias coronarias o la hipercoles-

terolemia, también contribuyen substancialmente a la aparición de un TNC en la adultez tardía o la vejez (45,61,68–78). Igualmente, la dieta y la microbiota intestinal también han sido relacionados con el nivel de deterioro cognitivo, el desarrollo de TNCs o la edad de debut de este (79–85). Por ejemplo, la variedad de microbiota se ha asociado con el nivel de depósitos de A $\beta$  (86,87).

Además de aquellos familiares de pacientes con TNC, que por su carga genética presentan un mayor riesgo de desarrollar un proceso neurodegenerativo, o aquellas personas que cumplen uno o varios factores de riesgo, existen otros **grupos con altas tasas de incidencia de TNCs** mayor sobre los que se han realizado multitud de estudios. Uno de estos grupos lo constituyen las personas con **deterioro cognitivo leve** (DCL) o TNC leve. Los criterios diagnósticos de DCL en el DSM-5 (**Caja 1**) incluyen el deterioro cognitivo moderado en uno o varios dominios neuropsicológicos, que normalmente es percibido de manera subjetiva por el propio individuo o por un informante cercano al sujeto, y que se corrobora objetivamente mediante escalas neuropsicológicas estandarizadas. Para ser considerado TNC leve, el funcionamiento cognitivo general se debe de mantener preservado, así como la capacidad para realizar las actividades de la vida diaria de manera independiente (88). La prevalencia en población general del DCL es de alrededor del 1-2% en mayores de 65 años y de más del 30% en mayores de 85 (23). La tasa de progresión a un cuadro demencial en los sujetos con DCL se encuentra entre el 5-15% por año (88). Atendiendo al principal criterio diagnóstico del DCL (el deterioro de uno o varios dominios cognitivos), el trastorno puede clasificarse en DCL de tipo amnésico (DCL-a) si existen quejas subjetivas mnésicas y/o el desempeño en tests neuropsicológicos de memoria episódica es pobre, o no amnésico (DCL-na), en el caso de que la afectación neuropsicológica se encuentre en otra área, como funciones ejecutivas, lenguaje o habilidades visuoespaciales (88). Además, el DCL puede ser de dominio único, cuando sólo se ve afectada una función neuropsicológica, o de múltiples dominios, cuando más de un área presenta un desempeño por debajo de la normalidad para la edad del individuo (88). Mientras que el DCL más frecuente es el de dominio

único, la prevalencia de DCL-a y DCL-na es similar. Sin embargo, la conversión hacia un cuadro de TNC mayor tipo EA es más probable cuando hablamos de DCL-a, mientras que los DCL-na suelen desarrollar TNCs de otra tipología (89).

Otro de los grupos de mayor riesgo de conversión a TNC mayor o demencia lo conforman los pacientes con un **trastorno depresivo mayor** (TDM), especialmente cuando el cuadro depresivo debuta o está presente en la adultez tardía (90). El deterioro cognitivo es una de las características principales del TDM, y normalmente se ve agravado con un mayor número de episodios depresivos (91). Igualmente, la gran mayoría de los pacientes con TNC presentan síntomas depresivos o un cuadro de TDM en edad tardía (92). De hecho, la presencia de un cuadro de TDM en la adultez tardía se ha señalado como una condición de riesgo para el desarrollo de un TNC mayor, especialmente de tipo EA, en comparación a sujetos sin síntomas depresivos (93–96). Aunque en la actualidad no existe suficiente evidencia para explicar la relación entre depresión y demencia, existen diferentes hipótesis sobre su relación: 1) el TDM podría ser reactivo al deterioro cognitivo temprano, 2) el empeoramiento del deterioro cognitivo propio de la depresión podría desencadenar en un TNC, o 3) la depresión podría suponer una manifestación clínica precoz de un TNC ya instaurado (93,97,98).

El número de síntomas y de episodios depresivos se ha asociado también de manera directa con una mayor probabilidad de desarrollar TNC mayor; así cada nuevo síntoma aumentaría el riesgo de TNC en un 19%, y cada episodio depresivo en un 14%, pudiendo llegar al doble de riesgo en aquellos pacientes que hayan presentado dos o más episodios depresivos (99,100). A nivel de la relación temporal entre estos dos tipos de síntomas, se ha observado una fuerte asociación entre ambas patologías cuando los síntomas depresivos aparecen un año antes del diagnóstico del TNC (101), aunque esta relación va haciéndose cada vez más débil cuanto más se aleja el debut de los síntomas depresivos del diagnóstico del TNC. Sin embargo, en pacientes en los que ambos trastornos se separaron en hasta 25 años, la asociación entre depresión y demencia todavía es

apreciable, aunque de manera más débil (101). Finalmente, la presencia de un TDM se ha visto asociada con una mayor prevalencia de DCL y con un incremento de la probabilidad de progresión a un cuadro de TNC mayor en los individuos con DCL previo (98).

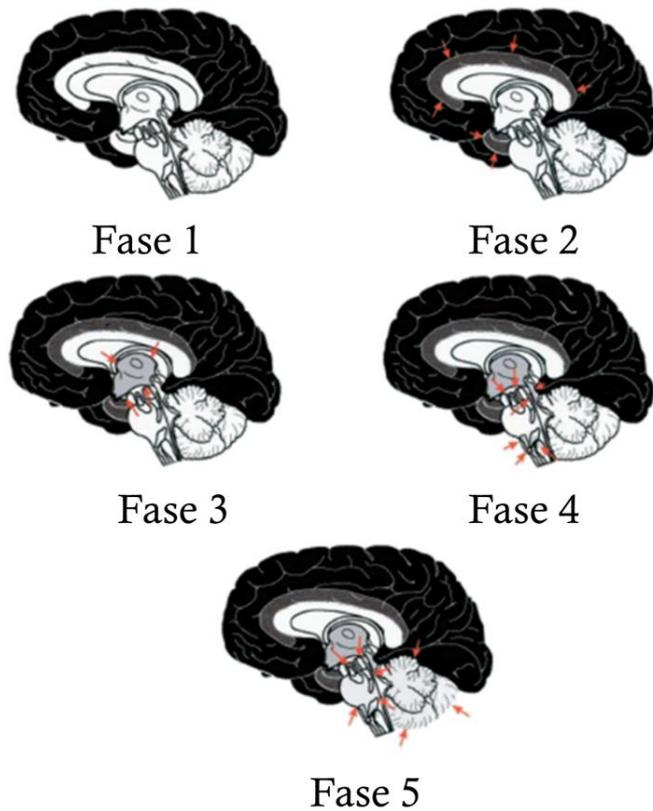
### 1.4. Bases neurales de los procesos neurodegenerativos

Los TNCs, concretamente de tipo EA, son trastornos neurodegenerativos que se desarrollan durante décadas y se caracterizan morfológicamente por la acumulación de péptidos de A $\beta$  que forman depósitos difusos y placas neuríticas, depósitos de A $\beta$  en los vasos que producen angiopatía amiloide, acumulaciones de tau hiperfosforilada que forman ONFs intraneuronales, hilos del neuropilo y neuritas distróficas (102–105). Estas características están presentes a lo largo de la evolución del TNC, pero también pueden aparecer en sujetos cognitivamente preservados (41,106). Por este motivo, se han ido sucediendo diferentes estudios sobre el curso de la enfermedad o cómo se relacionan estas proteínas, y sobre qué diferencia a los individuos con cuadros clínicos de aquellos asintomáticos.

Tras décadas de investigación se concluyó que la **proteína A $\beta$**  era el componente patológico predominante en TNC debido a EA (107,108). El componente primario de las placas amiloides es la acumulación de péptidos A $\beta$  no fibrilares, fibrilares u oligómeros provenientes de la escisión de la proteína APP (*amyloid precursor protein* o proteína precursora amiloidea). Este proceso da lugar a diferentes isoformas de A $\beta$ , con entre 38-43 aminoácidos. En condiciones no patológicas, la isoforma predominante es la A $\beta_{40}$ , mientras que en EA aparece en un primer momento (hasta 25 años antes del inicio de la enfermedad) un incremento de los valores de A $\beta_{42}$ , que descenderá, como consecuencia de la propensión a agregarse en las placas de A $\beta$ , unos 10 años antes del inicio del cuadro clínico (109). En EA, hay dos tipos de agregados: las placas A $\beta$  difusas,

comunes en adultos cognitivamente preservados, y las placas neuríticas (de núcleo denso), que se encuentran normalmente en pacientes con TNC debido a EA (110). Estas últimas, se asocian con neurotoxicidad, causan pérdida de sinapsis, astrocitos reactivos y microglía activa, así como la distorsión de los filamentos helicoidales de tau en axones y dendritas, lo que promueve la posterior formación de ONFs (111). La carga de estas placas A $\beta$  puede ser evaluada mediante PET, y entre 3 y 5 años antes del deterioro cognitivo aparece un incremento de esta deposición de placas junto con los niveles de tau total y tau fosforilada en LCR (112,113). La concentración de placas amiloides agregadas en PET amiloide es dependiente de la edad, pero también del perfil genético APOE (114). En individuos con DCL la carga de A $\beta$  en PET predice el deterioro cognitivo de los años posteriores, y diferencia a aquellos DCL que se encuentran en el continuum de EA de aquellos cuyo deterioro es debido a otros factores y que en general no progresan tan rápido (115,116).

Las **fases de deposición de A $\beta$**  fueron estudiadas y se estableció una clasificación con diferentes estadios en la aparición de los depósitos de A $\beta$  (**Figura 2**). En la fase 1 sólo se encuentran depósitos A $\beta$  en el neocórtex, concretamente en los lóbulos frontal, parietal, temporal y occipital. En la segunda fase, además de las regiones neocorticales, también se ven involucradas áreas como la corteza entorrinal, el lóbulo insular, la amígdala o el cíngulo. En la fase 3, las placas de A $\beta$  se hacen presentes en regiones subcorticales tales como el caudado, putamen, claustro, núcleo basal de Meynert, sustancia innominata, tálamo, hipotálamo, núcleo habenular lateral o la sustancia blanca. Varios núcleos del tronco, como el olivar inferior, la formación reticular del bulbo, la sustancia negra, los colículos superiores o inferiores y el núcleo rojo, se ven afectados en la fase 4. Por último, en la fase 5, aparecerá A $\beta$  en la formación reticular del puente, los núcleos pontinos, central y dorsal del rafe, el locus coeruleus, el núcleo parabraquial y el núcleo tegmental dorsal y en el cerebelo (117).



**Figura 2.** Fases de deposición de placas de  $A\beta$ . La fase 1 se caracteriza por presentar placas en neocórtex exclusivamente (en negro); en la fase dos también aparecen en corteza entorrinal, lóbulo insular, amígdala y cíngulo (señaladas con flechas rojas); fase 3, incluye diferentes núcleos subcorticales y sustancia blanca; en la fase 4 comienza la afectación del tronco encefálico; y en la última fase aparecerán las placas en algunos núcleos del puente y en el cerebelo. Figura adaptada de Thal et al., 2002 (117).

Estos datos llevaron a la formulación de la hipótesis de la cascada amiloide, que postula que la agregación de la  $A\beta$  y/o el depósito en distintas regiones del SNC es el punto inicial en el desarrollo del TNC debido a EA, siendo también el factor desencadenante de distintos eventos fisiopatológicos asociados, que incluyen los ONFs de tau, la disfunción sináptica, la inflamación, neurodegeneración, anormalidades vasculares y el cuadro clínico de demencia en el paciente (118). Siguiendo esta lógica, las intervenciones terapéuticas con  $A\beta$  como diana deberían prevenir u ofrecer una mejoría en el tratamiento del TNC tipo EA, pero los grandes ensayos clínicos enfocados a esta proteína no obtuvieron los resultados esperados (119). Es por ello que en los años siguientes y tras

avances en análisis de imagen, biomarcadores y modelos animales, se comenzaron a estudiar otros componentes que intervienen en el progreso del TNC.

Se empezó entonces a señalar a la proteína tau como otra posible gran contribuidora al inicio y progreso de la enfermedad. Las alteraciones de **proteína tau** son otro de los componentes principales del TNC debido a EA, pero también están presentes en otros trastornos neurodegenerativos como la parálisis supranuclear progresiva, la degeneración corticobasal, la enfermedad de Pick o la demencia frontotemporal. La proteína tau, en condiciones normales, se localiza principalmente en el axón de las neuronas, concretamente en el citoesqueleto de los microtúbulos axonales (120,121), pero también en otros compartimentos neurales como la membrana plasmática, el entorno sináptico (pre y post sináptico), la dendrita, e incluso en el núcleo de células neuronales y no neuronales (103,122–127). Cumple distintas funciones que van desde la estabilización de los microtúbulos y el transporte axonal o la señalización neuronal y plasticidad sináptica, hasta preservar la integridad del ADN y ARN nuclear y citoplasmático (121,125,128–131). Sin embargo, determinadas alteraciones dan lugar a que se inicie el proceso patológico. En este caso, se produce una excesiva fosforilación, principalmente de la proteína tau axonal, que se convierte en insoluble, desprendiéndose de los microtúbulos y deslocalizándose hacia otras regiones de la neurona, creando agregados y depósitos en distintas regiones de la célula (132–136). Estas agregaciones van desde pequeños oligómeros solubles, que también tienen un importante papel en la acción neurotóxica de tau, hasta grandes agregados de tau, como los ONFs compuestos de proteína tau hiperfosforilada en forma de filamentos pareados helicoidales (5,103). Existen diferentes **tipos de ONFs** que incluyen preovillos, ovillos intracelulares o extraneuronales (ovillos fantasma) (137). Los preovillos de tau patológica se van agregando y dan lugar a la formación de ovillos fibrilares intraneuronales maduros, que provocan diferentes alteraciones como anormalidades en la dendrita, el axón y la función sináptica de la neurona (111). Los ovillos fantasma, en cambio, son el resultado de la muerte de neuronas que contienen ONFs y se hacen visibles con algunas tinciones,

## Introducción

---

mostrando el lugar donde existía una neurona “enferma” (137). Cuando la tau hiperfosforilada, en la forma de filamentos pareados helicoidales, se agrega con placas neuríticas de A $\beta$  forman hilos del neuropilo, compuestos también muy presentes en EA y que se relacionan con profundas alteraciones del citoesqueleto neuronal (14,138,139).

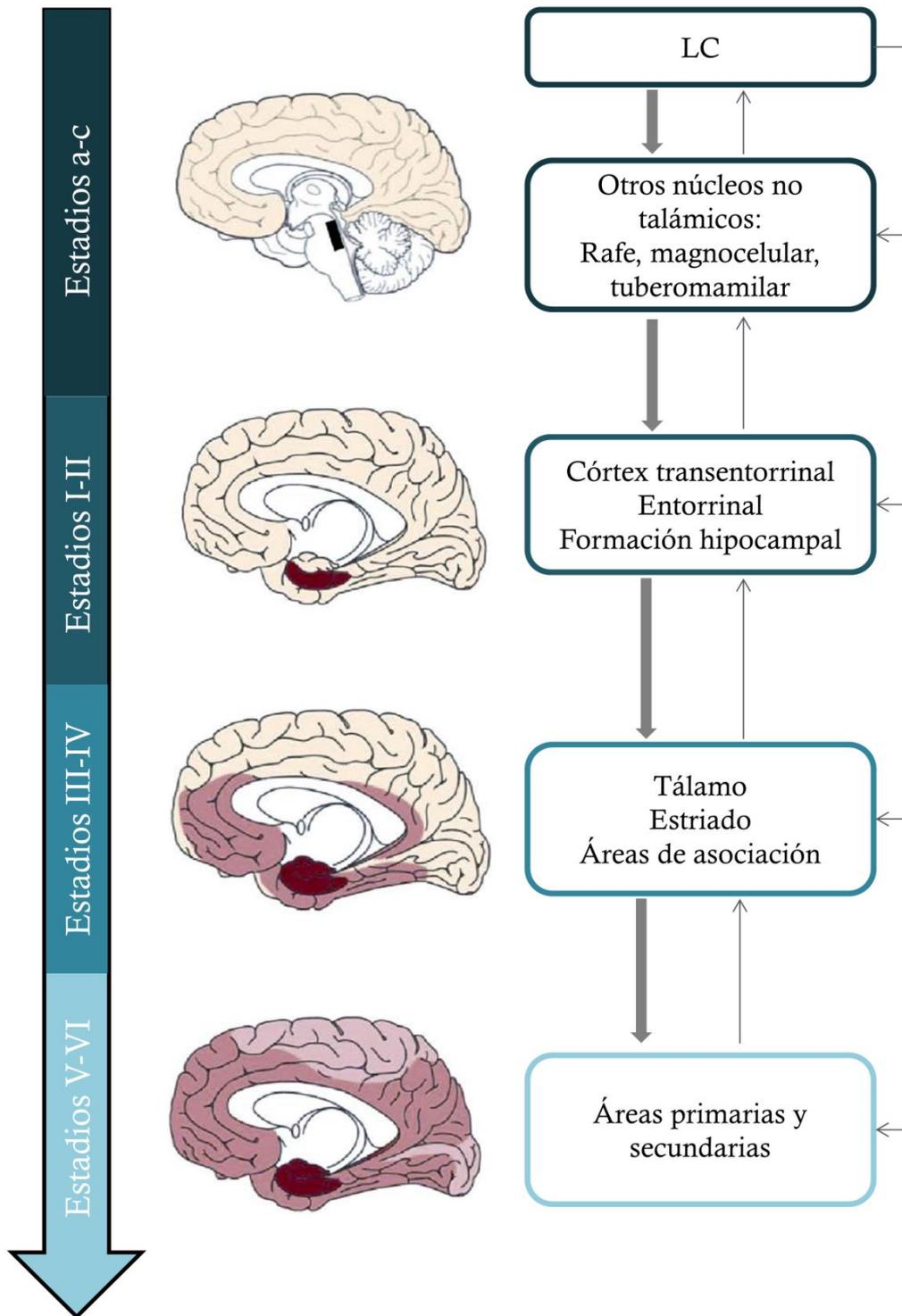
El aumento de tau fosforilada, su desprendimiento de los microtúbulos y su posterior depósito puede producirse en las dendritas en las fases tempranas de la EA o en el núcleo en fases más avanzadas, donde interacciona y daña directamente el ADN/ARN y a proteínas asociadas a estos (31,103,129–131,140–143). Este depósito de las agregaciones de tau patológica se produce en el soma neuronal, atravesando la barrera de difusión axonal y alterando la función pre y postsináptica (124,144–147). La tau patológica sufre un proceso de *seeding*, en el que se forman fibras anormales mediante el reclutamiento de monómeros por un oligómero inicial. Estas fibras pueden propagarse a grandes distancias viajando a través del axón o transsinápticamente, con transferencia neurona-a-neurona o contaminando células secundarias (148–159).

La aparición y propagación de tau en diferentes regiones encefálicas fue estudiada por Braak y Braak, proponiéndose diferentes **estadios de severidad de la tauopatía** en la EA (ver **Figura 3**). En los estadios pre-ONFs (estadios a-c), aparecen cambios en la proteína tau en el tronco encefálico, concretamente en el locus coeruleus, que se extienden después hacia otros núcleos como los del rafe, el magnocelular de Meynert, el tuberomamilar o los pedúnculos cerebelares. Conforme el TNC avanza, los pre-ovillos de tau se vuelven insolubles, forman lesiones neurofibrilares y se extienden a la región transentorrinal (estadio I), entorrinal y formación hipocámpal (II), tálamo y estriado (III), áreas de asociación del temporal, parietal y occipital y lóbulo prefrontal (IV), regiones de asociación de primer orden y áreas premotoras (V), y por último áreas primarias sensoriales y motoras (VI) (31,37,39).

Las **consecuencias de la acumulación de los depósitos de tau** y su propagación por el SNC son diversas e incluyen la alteración de las funciones propias de la tau,

afectando a la estructura de los microtúbulos, el transporte axonal, el empaquetado (o *'bundling'*) de filamentos de actina presinápticos, la disfunción neuronal, cambios estructurales en las sinapsis y pérdida de las mismas, y, finalmente, deterioro de habilidades cognitivas conforme la enfermedad progresa (124,145,160–165). La acumulación de tau presináptica, particularmente monómeros u oligómeros tanto de tau fosforilada como soluble (166), promueve que ésta se adhiera a las vesículas sinápticas e interfiera en la función de la neurona presináptica, provocando una reducción de la movilidad de estas vesículas o la alteración de la liberación de neurotransmisores, produciéndose así toxicidad sináptica y la aparición del deterioro cognitivo clínico y déficits de memoria en modelos animales (124,167–171).

Sin embargo, la tau **hiperfosforilada** está presente en el tronco encefálico y el LTM en la mayoría de los **adultos jóvenes** sanos de 30 o menos años con ausencia de patología A $\beta$  y en personas de edad avanzada sin evidencia de síntomas clínicos de TNC (31). Estos hallazgos sugieren que, al igual que la A $\beta$  también puede estar presente de manera substancial en adultos cognitivamente preservados, los ONFs por sí mismos no desencadenan el desarrollo de la EA (31,172). En la EA, encontramos tanto A $\beta$  como ONFs, y la neurodegeneración ocurre en distintas regiones (173,174): el depósito de placas de A $\beta$  se origina de manera más difusa en el neocórtex y se propaga hacia el interior (15,117,175), en cambio la patología tau ocurre de manera paralela a la muerte neuronal, apareciendo a nivel del córtex en la región entorrinal y propagándose hacia el hipocampo y el neocórtex (176,177). Los valores de ONFs están positivamente asociados con el nivel de atrofia del LTM en RM, que a su vez se encuentra estrechamente ligada con la aparición y severidad de los síntomas cognitivos. En cambio no se ha hallado una correlación significativa entre la carga de depósitos de A $\beta$  y la integridad estructural del LTM (178).



**Figura 3.** Resumen de los diferentes estadios de tau patológica en el SNC. La tau patológica aparece en primer lugar de forma subcortical, primeramente en el LC y se propaga hacia otros núcleos. A partir del estadio I, los agregados se vuelven insolubles y comienzan a extenderse a nivel cortical. Figura adaptada de Braak & Del Tredici, 2016 (37).

Existe evidencia de que estas dos proteinopatías no suponen procesos estancos sino que ambas se relacionan entre sí. El depósito de A $\beta$  es necesario para el desarrollo de EA pero no es suficiente para desencadenar el cuadro clínico de TNC que sólo se evidencia cuando existe patología tau cortical junto con los acúmulos de A $\beta$  (117,179,180). Este es uno de los motivos por los que el diagnóstico de EA sólo se realiza cuando existe evidencia de ambas proteinopatías en el SNC (43,181–183). Distintos estudios han constatado que la inyección de A $\beta$  induce la agregación, fosforilación y propagación de tau (184–188), y que el incremento de la actividad neuronal y el tratamiento con A $\beta$  podría aumentar la carga de tau sináptica o dendrítica y su propagación a las neuronas postsinápticas, regulando la localización y propagación de la proteína tau y su papel sinaptotóxico (189–193). Igualmente, la severidad de A $\beta$  se correlaciona positivamente con la patología tau, y la coexpresión de ambas suprime la actividad en la neurona implicada (194–196). A su vez, la tau dendrítica parece modular la actividad A $\beta$ , ya que la excitotoxicidad en la neurona y los defectos sinápticos inducidos por A $\beta$  dependen de la expresión de tau a nivel postsináptico (125,197–202). Estos hallazgos, junto con la falta de concordancia anatómica y temporal de la patología A $\beta$  y la muerte neuronal apunta a que existe una gran complejidad en la relación entre los eventos fisiopatológicos de la EA, y sugiere que es necesaria la **interrelación entre A $\beta$  y tau** para que se produzca el proceso neurodegenerativo.

En cualquier caso, además de tau y A $\beta$ , existen **otros mecanismos fisiopatológicos** que parecen influir en el proceso de desarrollo de EA y que contribuyen a su progreso, como es el caso de la neuroinflamación, con la presencia de astrocitos reactivos, microglía y niveles elevados de moléculas proinflamatorias, que influyen tanto en la eliminación de placas A $\beta$  y su depósito como en la propagación de la patología tau (111,203–210).

El **proceso degenerativo** es lento y requiere de un extenso periodo de tiempo para manifestarse clínicamente (39). A pesar de que los cambios anormales en tau apare-

cen de manera precoz en la vida, las lesiones no comienzan a aparecer hasta muchos años más tarde, creando una distribución regional característica de la EA (15,39,211–216). Solo en las últimas fases del proceso patológico, cuando posiblemente coexistan A $\beta$  y tau en las mismas regiones, se hacen evidentes los síntomas reconocibles de la EA esporádica. Esto explicaría que la frecuencia de casos clínicos crezca con la edad, siendo la presencia de TNCs más evidente en las sociedades con altas esperanzas de vida (214,217–223).

Uno de los factores agravantes de la patología neurodegenerativa es la **exposición al estrés crónico**, que está causalmente relacionado con la depresión mayor, en la que también se reflejan signos neuropatológicos propios de la EA (93,224,225). La secreción de altos niveles de glucocorticoides provocada por eventos estresantes de forma crónica contribuye al mal procesamiento de la APP y la generación de A $\beta$ , así como a la hiperfosforilación y agregación de tau, provocando también cambios en el proceso de neurogénesis, muerte celular, y alteraciones en la conectividad neuronal y las interacciones entre astrogliá y neurona, con defectos de arborización dendrítica y muerte sináptica (226). Diversos estudios apuntan a que los niveles de estrés y glucocorticoides suponen un factor de riesgo para el desarrollo de EA, aumentan la tasa de deterioro cognitivo y los déficits de memoria, la pérdida neuronal en el hipocampo, y la hiperfosforilación de tau y acumulación somatodendrítica en hipocampo, amígdala y córtex (227–230). Además, aquellos pacientes con EA e historia de depresión muestran una mayor acumulación de placas de A $\beta$ , ONFs y otros cambios neuropatológicos en el hipocampo, así como un deterioro cognitivo global más rápido en comparación con aquellos EA sin síntomas depresivos (231).

A pesar de conocer muchos de los procesos fisiopatológicos comunes entre la depresión mayor y los TNCs, la relación entre estos procesos aún no nos es completamente conocida. Existen diversos estudios que demuestran que existe en pacientes con TDM un aumento de los depósitos de placas de A $\beta$  y de ONFs, alteraciones en el ratio A $\beta_{40}$ /

$A\beta_{42}$ , aumento de muerte neuronal y glial en distintas regiones cerebrales como el hipocampo o el córtex frontal, atrofia hipocampal, niveles bajos de factores de crecimiento como BDNF, excitotoxicidad, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, y procesos neuroinflamatorios que desembocan en disminuciones del volumen cerebral y déficits cognitivos (93,232–237).

### 1.5. Biomarcadores de los TNCs

Tradicionalmente, el diagnóstico de la mayoría de los TNCs, y más concretamente de la EA, no ha podido ser definido de manera certera hasta el momento de la autopsia. A lo largo de las últimas décadas, se han sucedido los intentos de desarrollar marcadores biológicos *in vivo* que permitan realizar diagnósticos fiables y detectar la existencia de un proceso neurodegenerativo en individuos asintomáticos, antes de la aparición de los signos neuropsicológicos y conductuales propios del TNC y de que el proceso neurodegenerativo haya comenzado de manera irreversible. Disponer de unos biomarcadores eficaces supondría una oportunidad para la prevención y unas mayores posibilidades de intervención temprana en estadios precoces del TNC o incluso antes de su manifestación. Permitiría igualmente establecer diferentes dianas terapéuticas (farmacológicas, genéticas, etc.) y desarrollar nuevos tratamientos.

Los **biomarcadores actualmente validados** se obtienen principalmente a partir de muestras de LCR (líquido cefalorraquídeo) o de pruebas de imagen, tanto de imagen nuclear como de RM. Una clasificación de estos biomarcadores puede ser consultada en la **Tabla 1**. En una reciente revisión, el NIA-AA (*National Institute Aging and Alzheimer's Association*) plantea clasificar los biomarcadores disponibles actualmente en base a las tres marcas distintivas del TNC (43). Así, encontramos como biomarcadores de la presencia de placas de  $A\beta$  (A) la captación anormal de ligando amiloide cortical en una prueba PET (ej. florbetapir) o valores bajos de  $A\beta_{42}$  o del ratio  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  en LCR,

## Introducción

como marcadores de la presencia de ONFs (T) los valores altos de tau fosforilada (tau-F) en LCR o la captación anormal de ligando tau cortical en PET (ej. flortaucipir), y como biomarcadores del proceso de neurodegeneración o daño neuronal (N) los niveles de tau total (tau-T) en LCR, el hipometabolismo en PET de fluorodeoxiglucosa (PET FDG), o la atrofia temporal medial en imágenes de resonancia magnética (RM) estructural (43). Este último grupo de biomarcadores, los N, forman un grupo mucho más heterogéneo y son simplemente indicadores de un proceso neurodegenerativo o de deterioro neuronal que puede estar causado por distintas etiologías. La combinación de los tres tipos de biomarcadores, A-T-N, con la posibilidad de que cada uno de ellos tenga un valor positivo o negativo, ha sido propuesta como una metodología para clasificar a los individuos en el continuum del proceso neurodegenerativo (43).

**Tabla 1.** Biomarcadores indicativos de presencia de trastorno neurocognitivo

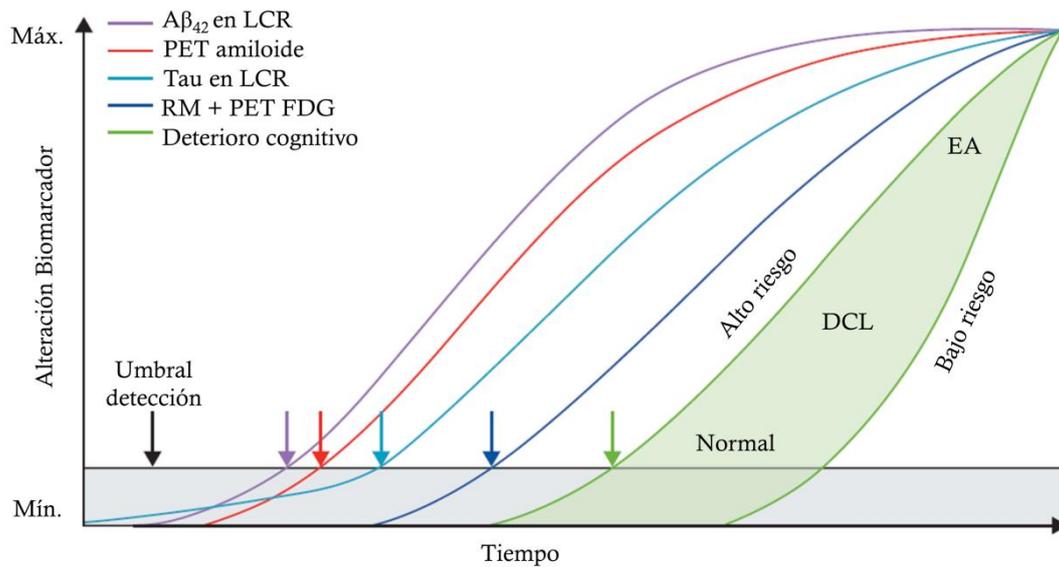
Método de adquisición	Biomarcador	Proceso estudiado
Líquido cefalorraquídeo	↓ <b>Ratio Aβ<sub>42</sub>/ Aβ<sub>40</sub></b>	Formación de placas de β-amiloide
	↑ <b>Tau-F</b>	Formación de filamentos helicoidales pareados de proteína tau (propios de NFTs)
	↑ <b>Tau-T</b>	Daño neuronal
Imagen nuclear	<b>PET amiloide positivo</b>	Placas amiloides agregadas
	<b>PET tau positivo</b>	Depósitos corticales de proteína tau patológica
	<b>Hipometabolismo cortical en PET FDG</b>	Actividad funcional - daño neuronal y pérdida de sustancia gris
Imagen por RM	<b>Atrofia temporal medial</b>	Pérdida o disminución de sustancia gris

Estos biomarcadores han sido validados a través de su correlación con síntomas clínicos y hallazgos post mórtem en casos de TNC mayor y leve. Así, por ejemplo, la comparación entre imagen *in vivo* de PET flortaucipir y los datos de autopsias ha mostrado una correcta identificación de los filamentos helicoidales pareados (propios de ONFs) y una correlación con los estadios de acumulación de ONFs de Braak y Braak (238). En el caso de A $\beta$ , se ha comprobado que el PET-amiloide es un buen marcador *in vivo* de la presencia de depósitos de placas en estudios post mórtem (239–243). Igualmente, el descenso del ratio A $\beta_{42}$ / A $\beta_{40}$  en LCR se ha correlacionado negativamente con la agregación de placas de A $\beta$  cerebrales en autopsia (244). Por otro lado, la **asociación entre estos distintos biomarcadores** también ha sido estudiada. La captación cortical anormal de radioligando tau se correlaciona negativamente con valores de metabolismo en PET FDG y el volumen de sustancia gris hipocampal en imágenes estructurales de RM (245). La presencia de biomarcadores de A $\beta$  anormales en sujetos cognitivamente preservados se ha asociado con una rápida progresión hacia atrofia cortical, especialmente en hipocampo y cíngulo posterior, hipometabolismo y puntuaciones más bajas en medidas de memoria en comparación a aquellos individuos sin marcadores amiloides anormales (246–258).

La literatura evidencia que el uso de estos biomarcadores no debe de realizarse de manera estanca sino en combinación entre ellos. Diversos estudios muestran que la combinación de resultados anormales en algún marcador amiloide junto con un biomarcador de otro tipo, como la atrofia en RM, altos niveles de tau-T o hipometabolismo general en PET FDG tiene un mayor poder predictivo de deterioro clínico posterior que el estudio de un biomarcador amiloide por si solo (259–261). Además, más allá de estos biomarcadores ya validados, existen **nuevos marcadores** que se postulan como posibles futuros candidatos en el diagnóstico de TNC. Ejemplo de ello son los valores de proteína tau en plasma, biomarcadores de TDP43, de cadena ligera de neurofilamentos,  $\alpha$ -sinucleína, neurogranina, etc. (44,102,262–264).

En distintos **grupos de riesgo o fases iniciales de TNC mayor** también se han llevado a cabo estudios de estos **biomarcadores**. Así, en DCL el PET FDG ha demostrado tener un mayor poder predictivo de conversión a EA que otras pruebas de imagen como el SPECT o la RM estructural (265). Además, los biomarcadores de LCR como el ratio  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ , la tau-T o la tau-F también se han propuesto como marcadores útiles para la predicción de la conversión de DCL-a a cuadros de TNC mayor (266–268). Por otro lado, tanto en individuos con EA como DCL con depresión comórbida, la captación de señal amiloide en PET y la formación de placas amiloides y de ONFs en estudios post mórtem es mayor en comparación con aquellos DCL o EA sin depresión (231,269,270). En pacientes con TDM, se han encontrado alteraciones en los niveles plasmáticos de  $A\beta_{42}$  (271,272), que se han relacionado con una mayor probabilidad de manifestar TNC mayor en años subsiguientes (273). En cuanto a la relación entre TDM y tau, existe evidencia de asociación entre ellas (274), pero su papel en esta patología y en la posible conversión a TNC sigue siendo un asunto pendiente de dilucidar (275).

A partir de estas evidencias, se ha propuesto una **cronología de la aparición de anomalías en los distintos biomarcadores** para tratar de entender cómo evolucionan los procesos subyacentes a los TNCs. La comparación de estos biomarcadores indica que los cambios en los marcadores de  $A\beta$  se detectan de manera más temprana que los asociados a patología tau (178,180), aunque en los estudios con inmunotinción las primeras alteraciones en el proceso neurodegenerativo parece que son aquellas asociadas a la proteína tau (39). La evidencia parece apuntar a que los cambios fisiopatológicos en  $A\beta$ , aunque comienzan más tarde y de manera independiente a aquellos en tau, reflejan anomalías en los marcadores más prematuramente y podrían estar influyendo y acelerando un posterior proceso de acumulación de tau insoluble y ONFs (ver sección *1.5. Bases neurales de los procesos neurodegenerativos*) (180). Así, en primer lugar, se encontrarían alterados los valores de  $A\beta_{42}$ , tras ellos el PET amiloide, y después los valores de tau en LCR, el PET FDG, la prueba de RM, y, por último, aparecerían los síntomas cognitivos (**Figura 4**).



**Figura 4.** Modelo de evolución de los niveles de biomarcadores a lo largo del continuum del TNC. El umbral de detección (línea horizontal negra) marca el punto a partir del cual la alteración de un biomarcador se hace evidente o da positivo. La acumulación de tau sucede con anterioridad a la aparición independiente de  $A\beta$  (reflejada en línea morada para  $A\beta_{42}$  en LCR, y en línea roja para PET amiloide), pero se mantiene en una región sub-umbral (área grisácea) hasta que la proteína amiloide impulsa este proceso patológico de tau y sus niveles en LCR (línea azul claro) comienzan a aumentar. La aparición de los síntomas cognitivos (línea verde) puede ocurrir a lo largo de un amplio periodo de tiempo; aquellos individuos con alta carga de  $A\beta$ , tau y signos de neurodegeneración mostrarán deterioro cognitivo más prematuramente situándose en una zona de alto riesgo. Los sujetos con un desarrollo normal con muy poca carga de signos neuropatológicos mostrarán un declive cognitivo mucho más suave a lo largo de los años y se encontrarán en una zona de bajo riesgo (línea verde situada más a la derecha). Figura adaptada de Jack et al., 2013 (180).

La aparición de anomalías en PET amiloide y en  $A\beta_{42}$  en controles sanos (CS) y en estadios muy iniciales del TNC, y la estabilización de sus niveles antes del inicio de los síntomas cognitivos y la atrofia en RM, indicarían que las alteraciones medidas por estos biomarcadores de  $A\beta$  llegan a un nivel máximo en etapas tempranas y se estabilizan posteriormente (178). La tau en LCR muestra un patrón parecido, ya que, aunque en un principio no refleje las alteraciones que se están produciendo en esta proteína en el SNC, una vez que los síntomas cognitivos están presentes, el valor de tau en LCR no cambia substancialmente. La atrofia en RM sería el marcador que muestra una mayor asociación con los síntomas cognitivos y el que se encuentra temporalmente más cerca de este declive cognitivo, lo que apuntaría a que el daño estructural, de hipocampo

principalmente, podría ser el detonante final en este deterioro cognitivo. Sin embargo, el mejor predictor de la conversión a EA en DCL y en portadores de APOE  $\epsilon_4$  es el PET FDG, que aparece alterado antes que la prueba de RM, lo que indicaría que el deterioro funcional del LTM y regiones anatómicamente conectadas es anterior al estructural (178,276,277).

### 1.6. Neuroimagen en TNCs y estadios premórbidos

Diversas técnicas de neuroimagen funcional y estructural han sido utilizadas para estudiar las distintas fases del TNC, las distintas funciones cognitivas alteradas, y de qué manera progresa la enfermedad. Las técnicas de neuroimagen se han usado incluso como método para el desarrollo de biomarcadores diagnósticos del TNC.

Mediante pruebas de **PET FDG** se ha demostrado que aparece una reducción del metabolismo en el LTM, la corteza temporoparietal lateral, la corteza cingulada posterior (CCP) y anterior (CCA), el precúneo, el lóbulo parietal inferior, el complejo hipocampal-amigdalino y el tálamo anterior en estadios iniciales de la EA y en individuos con DCL (278–282). Igualmente, la reducción del metabolismo en la CCP junto con valores altos de  $A\beta$  y tau se ha visto que puede predecir el deterioro de la memoria en sujetos cognitivamente sanos (283). En otros grupos de riesgo, como los hijos de pacientes con EA (H-EAIT), también aparece un hipometabolismo en la unión temporoparietal y la CCP, que precede a la atrofia de estas mismas regiones (284,285). En fases ya avanzadas de la enfermedad, el patrón de hipometabolismo se torna más global, y se añadirán áreas temporo-parietales, frontales y occipitales (286,287).

El **PET amiloide** en los sujetos con EA suele ser bastante difuso con captación por casi toda la corteza cerebral, pero en el caso de **PET tau** y de reducción del volumen de sustancia gris existe un patrón de progresión con predilección por cortezas posteriores (288). Concretamente, el patrón de captación de tau tanto en adultos cognitivamente

preservados como en DCL y EA corresponde claramente con los estadios neuropatológicos de expansión de patología tau de Braak, y se asocia con el nivel de deterioro clínico (40,41). En población de riesgo como individuos sanos con historia familiar de EA, sobre todo descendientes de madres con EA, el PET amiloide muestra una mayor captación en CCP, CCA, precúneo, parietal, temporal, occipital y frontal, mientras que en los hijos de padres con EA la captación se circunscribe a CCP y córtex frontal (289).

La **RM** ha sido otra de las técnicas más empleadas para el estudio del TNC y la atrofia visible mediante RM se considera un marcador diagnóstico válido en el proceso del TNC. En RM estructural, se revela un patrón de curso neurodegenerativo que, al igual que la propagación de tau, sigue los estadios de Braak (290). En un principio se observa atrofia en el LTM, incluyendo córtex entorrinal e hipocampo, que se va extendiendo hacia el resto del LTM, parahipocampo, giro temporal superior y polo temporal, giro fusiforme, ínsula y estructuras límbicas como la amígdala, el bulbo olfatorio, el giro cingulado y, finalmente, el tálamo (291–298). Conforme la enfermedad avanza, la atrofia se hace más global y se extiende hacia el lóbulo frontal, el parietal, el putamen, el tronco encefálico y el cerebelo, correlacionándose esta atrofia con la pérdida neuronal y con alteraciones del lenguaje, las praxias, y en tests visuoespaciales y conductuales (293,296,298–302).

**En población en riesgo** de desarrollo de EA también aparecen **alteraciones estructurales en la RM**. Por ejemplo, los portadores de algún alelo APOE  $\epsilon_4$  presentan un menor grosor cortical en el córtex entorrinal y el LTM, así como menos volumen en amígdala e hipocampo, en comparación con los no portadores (303,304). En comparación con individuos sin historia familiar de TNC, los familiares de primer grado de pacientes con EA también presentan una disminución significativa en el volumen de sustancia gris en multitud de regiones como hipocampo, amígdala, corteza entorrinal, parahipocampo, giro pre y poscentral, CCP, precúneo, lóbulo parietal superior e inferior, giro temporal superior, medio e inferior, polo temporal, corteza cerebelar, giro fusiforme

me, y giro frontal superior, medio e inferior (305–309). Por otro lado, los sujetos con depresión de inicio tardío muestran un menor volumen del hipocampo, corteza orbitofrontal, CCA, CCP, regiones temporoparietales, hipocampo, amígdala, estriado, tálamo e ínsula (310–312).

Además, mediante RM estructural se pueden apreciar **hiperintensidades en sustancia blanca** a lo largo del curso del TNC, que aparecen principalmente en el lóbulo frontal y parietal y que indican un proceso de desmielinización paralelo a la pérdida axonal, que puede estar en parte influenciado por la acumulación de A $\beta$ , que se agrega no solo en placas sino también en capilares cerebrales, creando un proceso de angiopatía cerebral amiloide que contribuye en la aparición de hemorragias lobulares y el consiguiente deterioro cognitivo del paciente (111,313,314). En individuos con depresión en edad avanzada también se ha observado una disminución de la sustancia blanca en regiones fronto-estriatales y una reducción de la integridad de los tractos de sustancia blanca que conectan estas regiones, como el cuerpo calloso o el fascículo uncinado (310).

Con **RM funcional** (RMf), se han estudiado alteraciones en actividad y conectividad funcional (CF) en los TNCs tanto en estado de reposo como frente a diferentes tareas cognitivas. En pacientes con EA se han detectado alteraciones en la **red por defecto (DMN, *default mode network*)**, que incluyen principalmente una reducción de la CF en esta red y atrofia de distintas estructuras que la conforman (315–317). Esta reducción de la CF en pacientes con EA se ha correlacionado positivamente con la severidad del TNC (318–320). La DMN es una red conformada por diferentes regiones cerebrales que se activa cuando la mente divaga o se recuperan memorias episódicas (321). En estadios previos a la EA comienzan las alteraciones en esta red, apareciendo una disminución de conectividad en la DMN posterior, acompañada en un incremento en la DMN anterior, que sería indicativo de un mecanismo de compensación prodromal. Con el avance de la enfermedad, la CF global de esta red va disminuyendo progre-

sivamente (322–325). La alteración funcional de la DMN en el DCL se acompaña además de una desconexión estructural entre las diferentes regiones que la conforman (326). Otra de las redes en la que se han demostrado alteraciones en la EA, así como en grupos con riesgo de desarrollar un TNC como los portadores de APOE $\epsilon$ 4, es la **red de saliencia (SN, *salience network*)** (316,327–329). La SN está conformada por diferentes estructuras que incluyen la CCA dorsal y la ínsula anterior, y procesa el constante flujo de estímulos externos mediante la integración de la información sensorial, visceral o autonómica con el fin de identificar aquellos que son relevantes y tomar decisiones o generar un comportamiento dirigido a un objetivo concreto (330,331). En individuos con DCL, también aparecen alteraciones en la actividad de la **red de atención ejecutiva (ECN, *executive control network*)** (316,332–336). En esta red se encuentran implicados los lóbulos frontales y parietales laterales, y está relacionada con procesos de memoria de trabajo, funciones ejecutivas y control cognitivo (337). Así, en la EA, se suele encontrar una disminución de la CF entre la DMN y la ECN, pero un aumento de esta CF entre la DMN y la SN que podría suponer un efecto compensatorio (329).

En H-EAIT aparece una menor CF entre el córtex entorrinal y el orbitofrontal, la CCA y el córtex temporal anterior, y la CCP y el LTM en comparación con sujetos sin historia familiar de EA (338,339). En depresión mayor, diferentes estudios han demostrado un deterioro de los circuitos frontal ejecutivo y cortico-límbico, entre los que se incluyen regiones como la CCA y CCP, la corteza prefrontal dorsolateral, el precúneo, el hipocampo, la amígdala y el cerebelo (340). Además, en esta población, se observa una disminución de la actividad en la ECN y el tálamo, y una hiperactividad en la SN, la red afectiva, la DMN y el cerebelo (341–343). Estas anomalías están asociadas con diferentes síntomas propios de la depresión, como disfunción ejecutiva, ansiedad o apatía (341,342).

En tareas de memoria, durante la fase de recuerdo, los individuos con EA muestran una disminución de la activación en el hipocampo y el LTM en comparación con los controles, pero durante la codificación existe un incremento de la actividad en la corteza parietal y la CCP que parece indicar un mecanismo de compensación de la disfunción del LTM (344,345). En individuos con DCL, el patrón de activación durante tareas de memoria es parecido al de los pacientes con EA, observándose un patrón de desactivación del hipocampo durante el recuerdo y una hiperactivación del mismo durante la codificación, que igualmente apunta a estos mecanismos compensatorios en los estadios premórbidos del TNC (346–348). Durante una tarea de codificación episódica, también los sujetos portadores de APOE  $\epsilon$ 3/4 muestran una reducción de la activación del hipocampo y del LTM en comparación con aquellos con APOE  $\epsilon$ 3/3 (349). En tareas similares a estas, al compararlos con sujetos sin historia de TNC, los H-EAIT muestran un incremento de la activación en frontal y temporal durante la codificación, y una disminución de la activación del cíngulo y tálamo durante la codificación y el recuerdo (350), que es un patrón que aunque no es idéntico al que presentan aquellos individuos con EA o TNC incipiente parece indicar que existe una alteración temprana en estas personas en riesgo de desarrollo de un TNC.

## 1.7. Sistema noradrenérgico: implicación en el proceso neurodegenerativo

### 1.7.1. Locus coeruleus

A lo largo del curso del TNC se han observado cambios en distintos sistemas monoaminérgicos. Sin embargo, el primer lugar en el que se detecta patología tau en el continuum de la EA es en el Locus Coeruleus (LC), núcleo que se encuentra en el tegmento pontino y constituye la mayor fuente de NA del SNC, siendo el único núcleo noradrenérgico que proporciona inervación al córtex, cerebelo e hipocampo (39,211,351–353).

La aparición de **signos neuropatológicos**, como ONFs, y **la degeneración del LC** en diferentes estadios del TNC y en estadios premórbidos han sido ampliamente estudiadas y validadas (354–369). Además, la progresión de estos signos en el LC se ha asociado con la severidad y duración del TNC, el grado de acumulación de placas de A $\beta$  y con algunos síntomas neuropsiquiátricos presentes en el TNC mayor como depresión, ansiedad, agitación, agresividad o alteraciones en el sueño (354,355,361–363,368,370–374). Las alteraciones fisiopatológicas en el LC se han relacionado con la pérdida de neuronas noradrenérgicas, disponibilidad de NA, o cambios en los receptores noradrenérgicos postsinápticos y en el transportador de NA (NET, *norepinephrine transporter*) en otras áreas cerebrales en pacientes con EA (354,355,359,372,375–378). Se estima que la pérdida neuronal en el LC en pacientes con EA es de hasta el 70%, lo que causa una reducción de niveles noradrenérgicos en las regiones corticales y límbicas inervadas por este núcleo (355,363,368,371). Estudios preclínicos en modelos animales de EA y estudios clínicos *post mortem* en humanos con EA demuestran que existe una disminución del volumen del LC y del número de células positivas a tirosina hidroxilasa (enzima precursora de la síntesis de dopamina (DA), necesaria para la síntesis de NA) en este núcleo (379,380).

Esta degradación del LC se ha comparado con la de otros núcleos en los que también aparece patología tau temprana, como el núcleo basal de Meynert o el núcleo del rafe, pero el LC muestra mayores alteraciones, mayor inclusión intraneuronal de tau, y mayor pérdida neuronal de manera más precoz (381–383). Las alteraciones en la proteína tau en el LC, como ya se ha comentado anteriormente, se han detectado en humanos desde los primeros años de vida y en adultos asintomáticos, aunque la pérdida neuronal no se produce hasta varias décadas después. Se estima que incluso desde la aparición de los ovillos insolubles de tau en el LC hasta la pérdida de neuronas que provoca el descenso de los niveles de NA en otras regiones cerebrales, junto con las consiguientes alteraciones, podría transcurrir un periodo de hasta 25 años (31,360,362). Las causas de la alteración temprana del LC no se conocen completamente, pero algunos estu-

dios apuntan a la exposición y susceptibilidad de este núcleo a distintos estresores a lo largo de la vida (384). Las neuronas del LC tienen axones muy largos y finos que se proyectan hacia todo el córtex de manera directa sin neuronas de relevo y tienen una mielinización pobre, lo que los hace más propensos al desarrollo de patología tau (367,385,386). Además, las neuronas del LC inervan gran parte de la microvasculatura del SNC y están muy próximas al LCR del cuarto ventrículo, lo que las expone al riesgo de contacto con toxinas, metabolitos dañinos e incluso virus que podrían causar estrés oxidativo, cambios en su metabolismo y alteraciones en las respuestas inmunológicas (362,384,387–389). Estas condiciones promueven la agregación y toxicidad de tau en las neuronas del LC, y pueden dar lugar a la aparición de lesiones, tipo ONFs, y a la consiguiente neurodegeneración. Esta patología temprana presente en el LC se propaga hacia neuronas cercanas, como las del núcleo del rafe, lo que resulta en afectación tanto del sistema noradrenérgico como del serotoninérgico, que parecen ser los responsables de la aparición de los síntomas conductuales y cognitivos propios de la EA y la depresión (362). A las alteraciones de este sistema serotoninérgico se le atribuyen de hecho algunos de los síntomas conductuales y psicológicos tempranos propios del TNC, tales como la alteración de los ciclos del sueño, del estado de ánimo, de expresión y reconocimiento de emociones, alteraciones en el apetito, o confusión y agitación (390–393). Igualmente, diferentes estudios han encontrado reducciones en los niveles de serotonina (5-HT), de los metabolitos relacionados con ella, de receptores serotoninérgicos, y una reducción de la inervación serotoninérgica en córtex, amígdala, hipocampo, globo pálido y tálamo (394–397).

Tras la aparición de patología tau en el LC, esta se extiende o aparece en otras regiones, como el córtex entorrinal, y, más tarde, en el hipocampo y la neocorteza (398). En pacientes con EA existe una disminución de NA en hipocampo y neocorteza que estaría mediada por la degeneración del LC debida a la aparición de ONFs en estas neuronas (355,359,384). Los mecanismos y vías por las que **la tau patológica se propaga** han sido estudiados, y se han propuesto distintos modelos, pero todavía existe una imagen

incompleta sobre este proceso. El LC es un pequeño núcleo que, a pesar de su tamaño, tiene proyecciones noradrenérgicas hacia prácticamente todas las estructuras corticales y subcorticales (399–403). Para tratar de discernir los mecanismos de propagación de la patología tau se ha investigado la vulnerabilidad del LC ante la patología tau, ya que la inoculación de tau humana patológica en el hipocampo de ratones induce patología tau en regiones anatómicamente conectadas, incluyendo el LC (404). Sin embargo, cuando se inoculara en el LC, la propagación de la tauopatía se realiza a otras regiones como el córtex frontal, pero no hacia el hipocampo o la corteza entorrinal (405). Por tanto, parece que la propagación retrógrada desde el LTM al LC sí funcionaría, lo que reafirma la conexión anatómica entre ambas estructuras. Sin embargo, la incapacidad de reproducir este modelo de expansión de tau patológica desde el LC hasta córtex entorrinal puede ocurrir por distintos motivos: que la propagación desde el LC al córtex entorrinal no se realice de manera directa, sino a través de otras vías, que la proteína sintética de tau utilizada en estos estudios no se comporte igual que la tau patológica humana, o que para que se produzca un patrón de propagación de similar al del EA es necesaria la proteína tau pero también otros compuestos o características específicas del huésped.

Diferentes estudios indican que la reducción de NA exacerba la patología de la EA y el deterioro cognitivo en modelos de EA en ratones (406). La lesión farmacológica de neuronas del LC en ratones que sobreexpresan APP resulta en alteraciones y neurodegeneración en otras regiones del cerebro en las que se observa mayor pérdida neuronal en regiones con aferencias del LC, marcadores de inflamación elevados, fallos de migración de la microglía hacia las placas y en la fagocitosis microglial de A $\beta$  y, como consecuencia, un incremento en la carga de placas de A $\beta$  y peor desempeño de tareas de memoria espacial y social (407–409). El bloqueo de receptores  $\beta$  adrenérgicos en un modelo de ratón de EA provoca un empeoramiento del déficit cognitivo, neuroinflamación y un incremento de la carga de A $\beta$  (410).

### 1.7.2. Funciones de la noradrenalina

La NA o norepinefrina está implicada en diferentes procesos fisiológicos como la eliminación de placas de A $\beta$ , neuroplasticidad, daño neuronal, factores neurotróficos, neurogénesis, supervivencia neuronal, neuroinflamación, metabolismo de energía celular, excitotoxicidad y estrés oxidativo (411,412). Es por ello que la degeneración del LC podría contribuir a la patogénesis de la EA por múltiples vías (409,413). Las proyecciones noradrenérgicas inervan también la vasculatura cerebral y optimizan su función, y, por tanto, la reducción de los niveles de NA afecta a la vasoconstricción y a la relación volumen de sangre – demanda de oxígeno por parte del cerebro, lo que a su vez puede conllevar el agravamiento del propio proceso neurodegenerativo (414).

La degeneración del LC se ha relacionado también con procesos de **neuroinflamación**, ya que la NA desempeña un importante rol de neuroprotección y antiinflamatorio (374,415,416). La neuroinflamación es un componente importante en la patogénesis de la EA (417–421). La disminución de disponibilidad de NA en áreas de proyección del LC facilita las reacciones inflamatorias, reduciendo el reclutamiento de microglía a lugares de placas de A $\beta$ , un deterioro de la fagocitosis microglial de A $\beta$ , y déficits en el soporte a la migración microglial o la producción de moléculas antiinflamatorias (408,418,422–424). Además, esta reducción de NA debida a la lesión del LC se asocia con una disfunción de la barrera hematoencefálica, que a su vez refuerza las respuestas inflamatorias (425–427). La reducción de la NA también conlleva la disminución de factores neurotróficos, particularmente BDNF, y la pérdida de su función como reductor del estrés oxidativo, lo que causa un daño retrogrado de las neuronas del LC, que supone un agravante neuropatológico y contribuye al deterioro propio de la EA (428–430).

El sistema noradrenérgico se ha relacionado clásicamente con la **detección de señales sensoriales, regulación de los niveles de arousal, procesamiento sensorial**, o la **modulación del estado de alerta** y del ciclo sueño-vigilia (393,412,431–437). Igualmente, estudios posteriores han demostrado su implicación en

otras funciones cognitivas y conductuales, como la atención, la flexibilidad cognitiva, o procesos de memoria y aprendizaje (438–451). La disfunción del sistema noradrenérgico en diferentes condiciones clínicas como la EA (452–454) o la depresión (455,456) conlleva el deterioro funcional de todos estos procesos en los que la NA juega un papel importante.

El LC tiene conexiones anatómicas extensas hacia el LTM (457), y la NA es necesaria para **codificar y consolidar** las **memorias** en el hipocampo, realizar el proceso de evocación y mantener el proceso de neurogénesis hipocampal (441,442,458–460). En ratones, la ablación física o farmacológica del LC conlleva la disminución de NA y la reducción de la proliferación de células en el giro dentado del hipocampo, así como déficits en memoria olfatoria y espacial, problemas en la discriminación de olores, inflamación glial y aumento del depósito de placas de A $\beta$  (407,454,459,461–463). La NA interactúa junto con otras catecolaminas, como la DA (464,465). Esta característica permite la acción directa e indirecta del LC en otras funciones (autonómica, motora, sensorial, etc.) (330). Estudios con humanos han comprobado que la administración de metilfenidato, medicación estimulante que incrementa los niveles de DA y NA, produce un incremento del recuerdo de palabras después de un aprendizaje y la cantidad de retención de información hasta aproximadamente una semana después (466–469). En humanos sanos, la administración de metilfenidato incrementa la CF entre el LC y el hipocampo (470). La liberación de DA en el hipocampo inducida mediante optogenética se origina en las neuronas del LC, y mejora la atención selectiva y el proceso de memoria de reconocimiento (471). Además, mediante RM se ha asociado positivamente la integridad estructural del LC con el recuerdo en el test de Aprendizaje Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT, *Rey Auditory-Verbal Learning Test*) en adultos sanos (472).

En pacientes con EA, los déficits de memoria suelen manifestarse de manera temprana y correlacionan con patología en el hipocampo (473). La pérdida de señal noradrenérgica en hipocampo y córtex entorrinal se ha señalado como una posible causa de

## Introducción

---

la acumulación de tau, con la consiguiente disfunción de estas estructuras y el deterioro cognitivo clínico, debido al rol de la NA en la potenciación a largo plazo y la plasticidad sináptica (380,451). El déficit de NA en estos pacientes también parece estar implicado en la alteración de la CF entre la SN y la DMN, ya que provoca que no se produzca la supresión de la actividad de la DMN para poder atender a las demandas de estímulos externos (330). En individuos con DCL, la CF entre el LC y el giro parahipocampal está positivamente correlacionada con puntuaciones en tareas de memoria episódica (474).

Igualmente, el LC juega un importante papel en la regulación de la **atención sostenida y selectiva**. El LC actúa como filtro permitiendo dirigir la atención selectivamente hacia estímulos salientes (380). Gracias a las variadas proyecciones del LC a regiones corticales y subcorticales, la NA es capaz de modular diferentes procesos y redes funcionales implicadas, entre otros, procesos de atención y memoria de trabajo (449,475,476). El sistema noradrenérgico contribuye a la iniciación y mantenimiento del comportamiento, y además modula la recogida y procesamiento de la información saliente mediante la acción en circuitos corticales y subcorticales sensoriales, atencionales y de memoria (437). Cuando se produce la liberación de NA en respuesta a un estímulo del entorno del sujeto se interrumpen las redes funcionales activas en ese momento y se facilita la reorganización de las redes cerebrales, promoviendo la adaptación conductual rápida del individuo hacia la exigencia ambiental, en un proceso que se ha denominado “reinicio de redes” o *network reset* (449,477). Las neuronas del LC en ratas y primates se activan tras la presentación de estímulos salientes, produciéndose así la liberación de NA necesaria para esta reconfiguración de redes que pueda dar respuesta al estímulo externo (478–480). Aunque el LC proyecte fibras hacia prácticamente todo el encéfalo, las regiones implicadas en procesamiento atencional reciben inervación particularmente densa de fibras noradrenérgicas (481). Durante el estado de vigilia, **las neuronas del LC tienen dos modos de funcionamiento**. En el modo fásico, aparecen ráfagas de actividad que se observan en los momentos previos a la respuesta conductual (482). Durante el modo tónico, existe una actividad base del LC pero

sin ráfagas de actividad que se correlaciona con un comportamiento más errático (447,448). La activación fásica en el LC en respuesta a un estímulo diana facilita la anticipación y la liberación de NA en el córtex antes de la acción dirigida a la demanda ambiental (483–486).

### 1.7.3. El LC en estadios premórbidos

La **pérdida de la densidad neuronal** en el LC no solo ocurre en estadios patológicos sino que también ocurre **durante el envejecimiento sano**, pudiendo llegar hasta a una pérdida neuronal del 50% en la década de los 90 años (487–489). Mediante la secuencia de RM estructural sensible a neuromelanina, se ha observado que la intensidad de la señal del LC es dependiente de la edad y su distribución sigue una forma de U invertida, apareciendo un pico máximo alrededor de los 50 años y menor señal al comienzo y al final de la vida (490), hecho que coincide con los estudios histológicos en los que se encuentra cada vez más pérdida neuronal conforme avanza la edad de los sujetos. Las probabilidades de desarrollar un TNC mayor aumentan drásticamente a partir de los 85 años (23). Estos datos apoyan aún más la evidencia de que el TNC es una enfermedad dependiente de la edad y que podría estar en parte inducida por los cambios que acontecen en el LC.

Sin embargo, al comparar, la densidad neuronal en el **LC** con la de población asintomática, incluso cuando se controla por la edad, esta resulta significativamente menor **en estadios de TNC mayor y premórbidos**, como DCL y depresión (361,366,491). La pérdida neuronal en el LC es progresiva, apareciendo una pérdida de entorno al 30% de las neuronas en individuos con DCL-a, que aumenta al 40% en demencia moderada y al 70% en estadios avanzados de TNC debido a EA (379,492). Un estudio estereológico post mórtem comprobó que cuando se incrementa el estadio de Braak en una unidad, el volumen del LC disminuye alrededor de un 8.4% (493). Este decremento del

número de neuronas noradrenérgicas en el LC está significativamente asociado con el empeoramiento de la función cognitiva global (330,379).

Diferentes estudios han relacionado igualmente la neurodegeneración del LC con distintas poblaciones en riesgo de desarrollo de TNC. Por ejemplo, las alteraciones de tau en el LC de individuos en primeros estadios de Braak pero cognitivamente asintomáticos están asociadas a múltiples procesos neurobiológicos relacionados con el malfuncionamiento y degeneración del LC (como problemas en los canales iónicos, en la activación microglial, la expresión génica, o bajos niveles de tirosina hidroxilasa, 494). Juntamente con los cambios en el LC, en este tipo de población aparece denervación dopaminérgica y noradrenérgica y un incremento de expresión de los receptores  $\alpha_2$  en el hipocampo y amígdala, que sugiere que existen mecanismos de activación compensatorios por la falta de catecolaminas en estas regiones en estos estadios precoces del TNC (494).

**La depresión está asociada con pérdida de células del sistema LC-NA** y con la consecuente pérdida de señal noradrenérgica en otras regiones encefálicas (495). El hecho de que muchos de los pacientes con depresión respondan a tratamientos farmacológicos noradrenérgicos o duales (NA y 5-HT), junto con la relación entre neurodegeneración del LC y del sistema noradrenérgico y depresión, apoyan la idea de que esta es una vía fundamental en la relación entre TNC y depresión. La interconexión entre LC y núcleo del rafe y la evidencia de que ambos sistemas, noradrenérgico y serotoninérgico, se conectan entre sí mediante heteroreceptores, permitiendo la modulación de la liberación de ambas sustancias (496), y la fuerte relación de comorbilidad entre depresión y TNC (96,272), sugieren que existen procesos fisiopatológicos comunes a ambas patologías. La pérdida de neuronas noradrenérgicas ha sido señalada como una de las posibles causas de la depresión en la EA (497). En estudios con animales, se comprobó que tras la administración de una neurotoxina (DSP-4) en el LC se redujo la población neuronal del LC, y posteriormente se observaron síntomas depresivos en

los ratones, cuya severidad correlacionaba inversamente con el número de neuronas supervivientes en el LC (498–501). Igualmente, en modelos de depresión con animales se observa que existe degeneración noradrenérgica y pérdida neuronal en córtex y LC (502,503). En individuos víctimas de suicidio con síntomas depresivos previos, la densidad neuronal también era significativamente más baja, en comparación con controles sanos (504). La pérdida de densidad neuronal en el LC se ha llegado a estimar en alrededor de un 55% en aquellos pacientes crónicamente deprimidos sin síntomas de demencia (365). Frente a pacientes con trastorno bipolar, los sujetos con TDM (unipolar) también muestran un menor número de neuronas en el LC y alteraciones genéticas relacionadas con factores de crecimiento o astrogliosis (491,505). Otros marcadores, como el incremento de los niveles de tirosina hidroxilasa en el LC (506) o la reducción de los niveles de NET (507) fueron igualmente hallados en pacientes depresivos, apoyando una vez más la evidencia sobre el deterioro del sistema noradrenérgico en los sujetos depresivos. Con una secuencia de RM estructural sensible a neuromelanina se observó *in vivo* que los pacientes depresivos mostraban una menor intensidad en la señal del LC en comparación con CS y pacientes con esquizofrenia (508–510). Tras la administración de ketamina, fármaco con efectos antidepresivos que modula el sistema de NA vía NET, se produce una disminución de la CF entre el LC y el tálamo, posiblemente indicando un cambio en la regulación de los niveles de *arousal* que provocarían un cambio en la dirección de la atención hacia estímulos no sensoriales y una mejora de la flexibilidad conductual (511). Igualmente, los pacientes de EA con TDM muestran menor número de neuronas en el LC, los núcleos del rafe y la sustancia nigra en comparación con aquellos con EA sin síntomas depresivos (363,373).

### 1.7.4. Neuroimagen del LC y TNC

La **neuromelanina** es un producto del metabolismo de la DA y la NA que se encuentra predominantemente en las neuronas dopaminérgicas de la pars compacta de la sustancia negra y en las neuronas noradrenérgicas del LC (508). Se trata de un pigmento que les da a estos núcleos un tono oscuro. En estudios histológicos, los pacientes con EA muestran una reducción de la pigmentación del LC a causa de la pérdida de estas neuronas con neuromelanina (398). En los últimos años, además, se han desarrollado técnicas de imagen por RM que permiten visualizar estas células. Mediante este tipo de secuencias se ha detectado también una atenuación de la señal de las neuronas del LC en individuos con DCL, pacientes con TDM y EA *in vivo*, lo que sugiere una pérdida neuronal tanto en fases tempranas y en TNC mayor (510,512). La disminución de señal del LC se correlaciona con niveles altos de A $\beta$  en LCR y con bajas puntuaciones en tests de memoria (513,514). En CS, la intensidad de la señal del LC en este tipo de secuencia está positivamente asociada con la reserva cognitiva de los sujetos, una de las medidas de protección más relevantes frente al desarrollo del TNC (515).

Con **resonancia magnética funcional en estado de reposo en CS**, se ha comprobado que el LC muestra **CF positiva** con el giro frontal superior, el córtex motor primario, el lóbulo parietal inferior, el giro temporal inferior, el giro parahipocampal anterior, la ínsula posterior, los núcleos putamen y pálido, el tálamo ventrolateral, el mesencéfalo y el cerebelo (516,517). Estos patrones de CF refuerzan la teoría de que el LC está implicado en las respuestas de orientación de la conducta y sensoriomotoras hacia estímulos externos (330). Además, este núcleo muestra **CF negativa** con el córtex visual, el giro temporal medio y el superior, el precúneo, el córtex retrosplenial, el giro parahipocampal posterior, el córtex frontopolar, el núcleo caudado, y el tálamo dorsal y medial (516). Esta CF negativa, especialmente con el precúneo, sugiere que el LC tendría un papel en la regulación de la actividad de la DMN, suprimiendo la activi-

dad de esta red para responder a los estímulos externos y facilitar la activación de las redes SN y ECN (518–521).

Además, esta función de reinicio de redes y de cambio de la atención hacia estímulos externos ha sido estudiada mediante tareas conductuales dentro de la RM en CS (330,522). En **tareas *oddball* o de detección del estímulo saliente**, la actividad del LC se incrementa ante la detección de un estímulo novedoso u *oddball*, en comparación con la actividad presentada frente a estímulos familiares (523,524). La exposición a condiciones de alerta en tareas de atención o a estímulos que desencadenan respuestas de *arousal* mediante estímulos de miedo, dolor, o ira, también están asociadas al incremento de la activación del LC (525–528). En comparación con sujetos más jóvenes, que tienen más neuronas noradrenérgicas con neuromelanina (ver sección 1.7.4. *LC en estadios premórbidos*), los individuos de más edad muestran una disminución de la CF entre el LC y redes frontoparietales ante estímulos salientes en una tarea de atención (529).

La **medida de la dilatación pupilar, o pupilometría**, también ha sido utilizada para medir la actividad del LC y se ha relacionado con el nivel de esfuerzo que se emplea para realizar una actividad cognitiva (485,530,531). Mediante este tipo de prueba, se ha comprobado que los individuos con DCL-a muestran mayores niveles de dilatación pupilar ante una prueba de memoria de trabajo, lo que indicaría un esfuerzo compensatorio por parte del LC para llegar a niveles de ejecución de la tarea parecidos a los de los CS (532). La degeneración temprana del LC se ha asociado con alteraciones en la pupilometría, un estado de persistente actividad tónica en el LC y menor ratio señal-ruido en las respuestas fásicas frente a tareas atencionales (533). Igualmente, en ancianos sanos con la integridad estructural del LC disminuida, la codificación de estímulos salientes aversivos (en una prueba de memoria afectiva) se ha asociado a mayores diámetros pupilares, indicando un incremento en la activación del LC durante esta codifi-

cación y un posible proceso de compensación, como se observa en los individuos con DCL-a (534).

### 1.8. Base para la realización de los estudios

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que actualmente entre un 6-8% del total de la población mayor de 60 años presenta algún TNC, lo que supone alrededor de 50 millones de personas y una incidencia anual de 10 millones de casos (26). Se prevé que, debido al envejecimiento de la población y al incremento de la esperanza de vida, el número de casos ascienda a 82 millones en 2030 y 152 millones de personas en 2050 (26). Además del incalculable sufrimiento humano que este grupo de trastornos causa tanto a pacientes como a su entorno próximo, se calcula que el global de los costes económicos de los TNC supera los 818.000 millones de dólares en todo el mundo, pudiendo superar en 2030 los 2 trillones de dólares (26). Todos estos datos ponen de manifiesto que este es un problema acuciante que necesita de soluciones reales a diferentes niveles, como el desarrollo de nuevos métodos de prevención, detección/diagnóstico y tratamiento. Esta tendencia se refleja en el aumento y cuantía de las inversiones tanto públicas como privadas (535) y el número de publicaciones científicas al respecto en los últimos años (**Figura 1**).

Dado que a partir de la quinta década de vida todos los humanos presentan tauopatía y placas A $\beta$ , pero la prevalencia de TNC se estima “únicamente” en alrededor del 5-10% en los mayores de 65 años y alrededor del 30% en aquellos por encima de los 85, es necesaria una investigación más profunda de los hechos diferenciales que promueven que sólo en algunos casos se desarrollen síntomas de deterioro cognitivo y un posterior TNC mayor. Además, actualmente los biomarcadores de los que disponemos son sensibles a cambios histopatológicos en LCR o el parénquima cerebral indicativos de estadios de TNC ya avanzados e instaurados. Por ejemplo, la atrofia hipocampal visible

en RM estructural no se hace patente hasta muchos años después de que las alteraciones de tau y la pérdida neuronal en otras regiones como el LC hayan comenzado. Otras técnicas que recaban información funcional cerebral, como el PET FDG, proporcionan igualmente resultados que se interpretan en base a si encajan o no con un perfil de TNC mayor y dirigen el foco de la atención a regiones corticales que se ven afectadas en estadios ya avanzados de la patología. El hecho de que no todos los casos con signos biológicos clásicos de TNC desarrollen un cuadro clínico esperable de acuerdo a la patología presente torna la relación entre neuropatología y síndrome clínico más compleja, y sugiere que hay otros factores o mecanismos que actúan como factores de resiliencia o compensación ante estos cambios patológicos antes de que se produzca el desarrollo del TNC. Además, existe un altísimo número de ensayos clínicos de fármacos en EA que no llegan a superar las últimas fases del ensayo por distintos fallos en los diseños de los estudios. Entre estas causas se encuentran que estos tratamientos se ensayan en población en estadios neurodegenerativos ya avanzados cuando el deterioro cognitivo y el daño fisiopatológico parecen irreversibles, y no se dispone de biomarcadores eficaces para identificar aquellos grupos de personas con un mayor riesgo de desarrollar un cuadro clínico de TNC (536).

El desarrollo de nuevo conocimiento sobre los estadios iniciales del TNC se hace necesario para poder promover la aparición de nuevos biomarcadores diagnósticos que permitan clasificar a los individuos y predecir la evolución de los cambios fisiopatológicos presentes con el fin de avanzar hacia un tratamiento más temprano y personalizado. En los últimos años, se han realizado una diversidad de estudios de los cambios iniciales en el LC en el continuum del TNC, mediante estudios histológicos, modelos animales e incluso con RM estructural a raíz del desarrollo de las secuencias que permiten observar y medir de manera más precisa las neuronas del LC. No obstante, la investigación sobre la funcionalidad del LC *in vivo* en estadios premórbidos de los TNCs se restringe a unos pocos ejemplos aislados en los que se ha estudiado esta CF de manera indirecta (532,533), o a estudios con resultados negativos (537). Los cambios funciona-

## Introducción

---

les en muchas ocasiones anteceden a las alteraciones estructurales, y medir estos posibles signos precoces de deterioro en el LC es importante para la comprensión del proceso neurodegenerativo. La RMf es además una técnica no invasiva, rápida y de la que se extrae mucha información, de la que podemos, por tanto, obtener pistas del mal funcionamiento de las neuronas de este núcleo antes de la propagación de las alteraciones hacia otras regiones cerebrales y antes del comienzo de la muerte neuronal y del cambio estructural. Conocer estos procesos funcionales nos permitiría avanzar en el descubrimiento de los signos que nos permitan predecir la evolución de cada persona con el fin de proporcionar ventanas temporales y dianas terapéuticas sobre las que desarrollar estrategias de intervención precoz con el fin de avanzar hacia la prevención o enlentecimiento del curso de la enfermedad, mejorando la calidad de vida de los pacientes, de su entorno y de la sociedad en su conjunto.





# Hipótesis

---



## 2. Hipótesis

### “Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer’s disease”

---

Hipótesis:

- En base a los estudios previos que han determinado los lugares de aparición de los primeros signos neuropatológicos de EA y han comparado diferentes núcleos para dilucidar cuál es el primero en el que se observan estos cambios patológicos, planteamos la hipótesis de que de entre los núcleos del tronco encefálico, el LC mostrará las mayores alteraciones de conectividad funcional en el grupo de familiares de enfermos de Alzheimer en comparación con los controles sanos sin historia familiar de EA.
- Los familiares de enfermos de Alzheimer manifestarán disminuciones de conectividad funcional entre el LC y regiones con aferencias noradrenérgicas directas.
- Por último, anticipamos que estos patrones de conectividad funcional anómalos estarán correlacionados con medidas neurocognitivas relacionadas con el deterioro cognitivo propio de la EA.

### “Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task”

---

Hipótesis:

- Los individuos con trastorno depresivo mayor (TDM) en adultez tardía o deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCL-a) mostrarán déficits de ejecución en la tarea de *oddball* visual en comparación con un grupo de controles sanos.

## Hipótesis

---

- Los grupos clínicos (TDM y DCL-a) presentarán alteraciones de conectividad funcional entre el LC y otras regiones cerebrales durante la detección de los estímulos salientes en la tarea de *oddball* visual.
- Los resultados de neuroimagen se asociarán con las medidas de ejecución durante la tarea de *oddball* visual y con las medidas de severidad de los trastornos.
- Las alteraciones arriba descritas discriminarán entre los grupos clínicos en función de su probabilidad de desarrollar un trastorno neurocognitivo mayor.





# Objetivos

---



## 3. Objetivos

### 3.1. Objetivo general

El objetivo principal de la presente tesis consistió en investigar la conectividad funcional del Locus Coeruleus (LC) en individuos en riesgo de desarrollar un trastorno neurocognitivo mayor. Mediante la utilización de diferentes modalidades de neuroimagen funcional y estructural y el análisis de datos clínicos y neuropsicológicos hemos pretendido describir las alteraciones de conectividad funcional tempranas presentes en el LC en estos grupos poblacionales y su relación con diferentes medidas de deterioro cognitivo y clínico. Esperamos que nuestros hallazgos contribuyan a la mejora del conocimiento sobre los cambios fisiopatológicos precoces en el LC que presumiblemente se asocian con la aparición de trastornos neurocognitivos con el fin de identificar nuevas dianas para el desarrollo de métodos diagnósticos, de prevención y terapéuticos.

### 3.2. Objetivos específicos

**“Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer’s disease”**

---

Objetivos:

- Comparar los patrones de conectividad funcional global en estado de reposo del tronco encefálico (mesencéfalo y puente) entre una muestra de adultos de mediana edad asintomáticos con historia familiar de EA y un grupo de participantes sin historia familiar de EA.
- Investigar los patrones de conectividad específicos entre esta región del tronco del encéfalo y el resto del cerebro.

## Objetivos

---

- Examinar las asociaciones entre los resultados de neuroimagen y las variables clínicas y neurocognitivas.

### **“Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task”**

---

#### Objetivos:

- Estudiar la ejecución de individuos con TDM en adultez tardía o DCL-a durante una tarea de *oddball* visual.
- Evaluar la conectividad funcional del LC con el resto del cerebro durante un paradigma de *oddball* visual en pacientes con TDM en adultez tardía, individuos con DCL-a y controles sanos.
- Identificar las correlaciones entre los resultados de neuroimagen y las variables clínicas y neuropsicológicas de los grupos de participantes.
- Comparar las medidas arriba descritas entre los grupos clínicos para determinar si su alteración se asocia con la probabilidad supuesta de desarrollar un trastorno neurocognitivo mayor.





# Métodos

---



## 4. Métodos

En esta sección se detalla principalmente aquello relacionado con los materiales y técnicas de neuroimagen utilizados en cada uno de los estudios que conforman esta tesis. La descripción precisa de las muestras, la metodología y los análisis estadísticos realizados para cada uno de los estudios puede ser consultada en el texto los trabajos (ver apartado *4. Resultados*).

### 4.1. Participantes

Se reclutaron distintas muestras de pacientes para llevar a cabo cada uno de los estudios:

- **Estudio 1:** se reclutaron un total de 31 sujetos sanos hijos de pacientes con EA de inicio tardío (H-EAIT) en la fundación FLENI (Buenos Aires, Argentina). Los pacientes con EA (los progenitores de los participantes en el estudio) fueron diagnosticados en base a los criterios diagnósticos del DSM-5 (23), debiendo presentar, además, una puntuación superior o igual a 1 en la Escala de Valoración Clínica de Demencia (CDR, *Clinical Dementia Rating*) (538), puntuaciones alteradas de recuerdo diferido y la prueba de reconocimiento del RAVLT (539), y evidencias de atrofia temporal medial en imágenes de RM y de captación de depósitos de proteína A $\beta$  en imágenes de PET. Como criterios de inclusión para el grupo H-EAIT (los participantes en este estudio) se estableció que los individuos debían tener entre 30 y 65 años en el momento del reclutamiento, al menos 7 años de educación formal para evitar sesgos en las pruebas neuropsicológicas, 26 puntos o más en el Mini-Examen del Estado Mental (MMSE, *Mini-Mental State Examination*) y menos de 4 puntos en la Escala de Isquemia de Hachinski, no presentar ninguna enfermedad neurológica ni otra condición

médica severa o patología psiquiátrica (incluyendo el abuso de sustancias presente o pasado, a excepción de nicotina), ausencia de contraindicaciones para realizar la prueba de RM, y no mostrar evidencia de anormalidades detectables neurorradiológicamente en las imágenes de RM. Un grupo de 28 controles sanos (CS) sin historia familiar de EA, comparables con los sujetos del grupo H-EAIT en sexo, edad, nivel educativo y síntomas depresivos fueron también incluidos en el estudio.

- **Estudio 2:** esta muestra se reclutó en el Hospital Universitario de Bellvitge (Barcelona, España), e incluyó a 20 pacientes con trastorno depresivo mayor (TDM) en edad avanzada, 16 sujetos con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico (DCL-a) y 26 CS. Los pacientes con TDM fueron diagnosticados siguiendo los criterios del DSM-IV-TR (540), presentaban TDM como diagnóstico psiquiátrico principal, y en todos los casos el debut del trastorno depresivo se produjo más allá de los 40 años. Los participantes con DCL-a cumplían los criterios de Petersen (541) para este diagnóstico, presentaban un CDR de 0.5 puntos (deterioro cognitivo muy leve) (538), y se caracterizaron como tipo amnésico ya que tenían puntuaciones alteradas de recuerdo diferido en la Escala de Memoria de la WMS-III (*Weschler Memory Scale third edition*) (542). Ninguno de ellos presentaba comorbilidad con trastorno depresivo. El grupo de CS fue reclutado de la misma área sociodemográfica y fueron evaluados clínica y neuropsicológicamente para descartar la presencia de alguna patología psiquiátrica, neurológica o médica severa. Los criterios de exclusión incluyeron tener menos de 60 o más de 75 años, trastornos psiquiátricos o neurológicos actuales o pasados diferentes de los propios de cada grupo, más de 3 puntos en las Escala de Isquemia de Hachinski, una puntuación de más de 0.5 puntos en la escala CDR, discapacidad intelectual, la existencia de alguna condición médica o sensorial que impidiera la ejecución de las pruebas neuropsicológicas, la presencia de contraindicacio-

nes para realizar la prueba de RM, o anormalidades neurorradiológicas en las imágenes de RM.

## 4.2. Pruebas clínicas y neuropsicológicas

Con el fin de caracterizar y evaluar los diferentes dominios psicológicos y neurocognitivos en cada una de las muestras de los estudios, se utilizaron distintas pruebas y cuestionarios.

### 4.2.1. Pruebas clínicas

En el **Estudio 1**, se utilizó el Inventario de Depresión de Beck (BDI, *Beck's Depression Inventory*) (543) para evaluar los síntomas depresivos que pudieran presentar los participantes, ya que a pesar de tratarse de una muestra de participantes sanos con historia familiar de TNC, la literatura previa apunta a una relación entre depresión y diversos signos de degeneración en el LC y sus áreas de proyección (101,235,491). Se trata de un test ampliamente utilizado para medir la severidad de la depresión y sus manifestaciones conductuales. La escala de la puntuación tiene un rango de entre 0-63 puntos y lo componen 21 ítems de respuesta múltiple referentes a la tristeza, el pesimismo, sensación de fracaso, pérdida de placer, sentimientos de culpa, sentimientos de castigo, disconformidad con uno mismo, autocrítica, pensamientos o deseos suicidas, llanto, agitación, pérdida de interés, indecisión, desvalorización, pérdida de energía, cambios en los hábitos de sueño, irritabilidad, cambios en el apetito, dificultad de concentración, cansancio o fatiga, y la pérdida de interés en el sexo (543).

En el **Estudio 2**, todos los participantes fueron evaluados mediante la Escala de Depresión de Hamilton (HDRS, *Hamilton Depression Rating Scale*) (544) con el fin de evaluar la severidad de la depresión y sus síntomas. Se utilizó la versión de 17 ítems (ya

que en la versión de 21 ítems los cuatro últimos no valoran la intensidad o gravedad de la depresión) que tiene un rango de puntuación de 0-52 puntos y evalúa el humor deprimido, sensación de culpabilidad, ideas de suicidio, insomnio precoz, medio y tardío, problemas en el trabajo y actividades, inhibición (lentitud de pensamiento y lenguaje, capacidad de concentración disminuida, disminución de la actividad motora), agitación, ansiedad psíquica, ansiedad somática, síntomas somáticos gastrointestinales y generales, pérdida de libido, hipocondría, pérdida de peso, y el *insight* o conciencia de la enfermedad (544). Además, se utilizó la versión española de la Escala de Depresión Geriátrica (GDS, *Geriatric Depression Scale*) (545) que supone una herramienta de cribado de depresión en población geriátrica. Dicha escala consta de 30 preguntas y un rango de puntuación de 0-15 puntos. Se evaluó el estadio clínico de neurodegeneración en aquellos individuos que presentaban DCL mediante la escala CDR (538) para descartar pacientes con TNC mayor. Esta escala evalúa, mediante entrevista tanto al individuo como a un informador que conviva con el sujeto, diferentes áreas como la memoria, orientación, razonamiento y solución de problemas, actividades fuera de casa, actividades domésticas y aficiones, y cuidado personal. De ella resulta una puntuación comprendida entre 0 y 3 puntos (538). Por último, los participantes respondieron a la Escala de Evaluación Funcional (FAST, *Functional Assessment Staging*) (546) que examina distintos déficits funcionales (autonomía, funcionamiento cognitivo, relaciones interpersonales, ocio o funcionamiento laboral) y la pérdida o conservación de destrezas para llevar a cabo actividades de la vida diaria.

### 4.2.2. Evaluación neuropsicológica

Se utilizaron una serie de pruebas neuropsicológicas validadas y ampliamente aceptadas con el fin de reclutar muestras de sujetos adecuadas a nuestros intereses, así como para poder estudiar las posibles asociaciones entre el estado neurocognitivo de los participantes y los resultados de neuroimagen.

En el **Estudio 1** se utilizó el MMSE (547) como test de cribado de la función cognitiva; el RAVLT (539) para evaluar la memoria y el aprendizaje verbal; test del trazo (TMT, *Trail Making Test*) (548) con el que se evalúan habilidades de atención visual, velocidad psicomotriz, control ejecutivo y flexibilidad cognitiva; el test de Stroop (SCWT, *Stroop Color and Word Test*) (549) con el fin de evaluar la capacidad de inhibición; tests de fluencia verbal fonológica y semántica (evocación de palabras que comienzan por la letra “p” y referidas a animales, respectivamente); test de la Torre de Londres (TOL, *Tower of London*) (550) dedicado a estudiar la capacidad de planificación; test de denominación de Boston (551) con el que se evaluaba la capacidad lingüística; y por último los subtests de *Span* Verbal, Semejanzas y Vocabulario de la Escala de Inteligencia de Weschler, cuarta edición (WAIS-IV, *Weschler Adult Intelligence Scale fourth edition*) (552).

En el **Estudio 2**, se evaluó la orientación del participante en espacio, tiempo y persona a través del subtest de orientación del test Barcelona (553); la atención y la memoria de trabajo con la ayuda del *Span* Verbal de la tercera edición de la Escala de Inteligencia de Weschler (WAIS-III, *Weschler Adult Intelligence Scale third edition*) (542) y los Cubos de Corsi (554); la memoria y el aprendizaje verbal con los tests de Aprendizaje de la Lista de Palabras y Memoria Lógica de la WMS-III (552); las funciones ejecutivas, como la inhibición automática, la velocidad de procesamiento y la capacidad de abstracción a través del subtest de Inhibición Automática del test Síndrom Kurtz (SKT, *Syndrom Kurtz Test*) (555), el Test de Símbolos y Dígitos (SDMT, *Symbol Digit Modalities Test*) (556) y el subtest de Semejanzas de la escala WAIS-III (542), respectivamente; la fluencia verbal fonológica y semántica (evocación de palabras que comienzan por la letra “p” y referidas a animales, respectivamente); el lenguaje con el test de denominación de Boston (551) y la versión abreviada del test Token (557); y, por último, las gnosias y praxias fueron evaluadas con el test de los 15 objetos (558), el Diseño de Bloques del WAIS-IV (552), y el subtest de Praxias ideomotoras y de imitación del test Barcelona (553). Además de esta completa batería neuropsicológica, los participantes

también realizaron otros tests específicamente orientados a evaluar funciones en las que se encuentra implicado el LC, como la tarea de Vigilancia Psicomotora (PVT, *Psychomotor Vigilance Task*) (559), el test de Rendimiento Continuo de Conners (CPT, *Continuous Performance Test*) (560), y una tarea *Go/No-go* (*Cued Go/No-go task*) (561), que evalúan aspectos como la atención sostenida y selectiva, el nivel de *arousal*, la velocidad de procesamiento, la capacidad de inhibición o el control cognitivo.

### 4.3. Condiciones experimentales

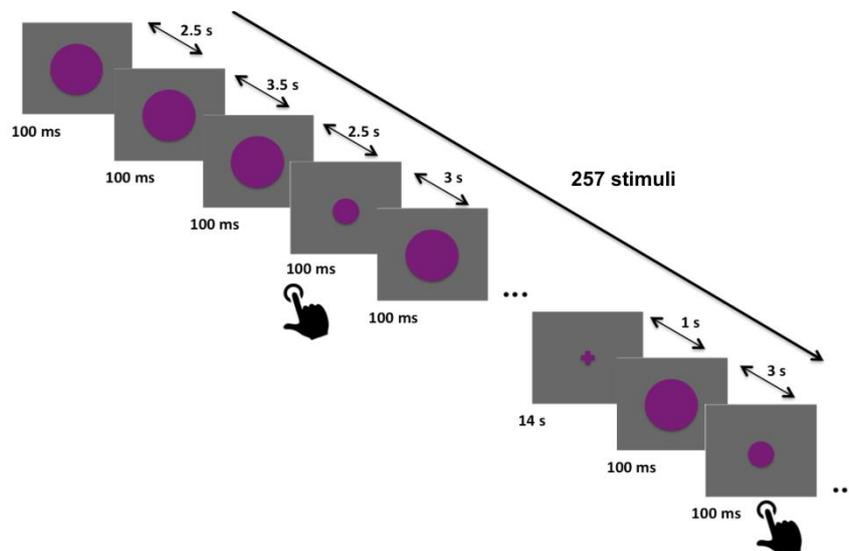
#### 4.3.1. Secuencia en estado de reposo

Durante la adquisición de una secuencia de resonancia magnética funcional en estado de reposo se pide a los participantes que se acuesten en la camilla del escáner manteniendo los ojos cerrados o abiertos (en nuestro caso, en el **Estudio 1** se pidió que se cerraran los ojos). Se señala a los sujetos que se mantengan despiertos en estado de relajación sin realizar ninguna tarea cognitiva concreta. Este paradigma se utilizó en el **Estudio 1** con el fin de estudiar la conectividad intrínseca de redes neuronales cerebrales en estado de reposo, sin la implicación de ningún proceso cognitivo.

#### 4.3.2. Tarea *oddball* o de detección de estímulo extraño

En el **Estudio 2**, dentro de la máquina de RM, los participantes realizaron una tarea de *oddball* visual o de detección del estímulo extraño durante la adquisición de una secuencia de RMf. La tarea *oddball* es un paradigma de inducción de alerta o de medición de *arousal* que permite evaluar la capacidad de detectar estímulos impredecibles, infrecuentes y salientes, llamados *oddball*, y que se ha utilizado tradicionalmente para estudiar la actividad fásica de las neuronas del LC (484). Se trata de una tarea de eventos en la que se intercalan estímulos estándar no relevantes para el sujeto (un total de

200) con estímulos salientes u *oddball*, que son infrecuentes (50 estímulos *oddball*). Cada uno de los estímulos se presentaba durante 100 milisegundos con un intervalo interestímulo que variaba entre los 2.5 y 3.5 segundos (Figura 5). Los estímulos *oddball* se distribuían de manera semi-aleatoria con un intervalo inter-*oddball* de al menos 10 segundos. Además, se incluyeron a lo largo de la tarea 7 bloques (de 14 segundos) en los que se presentaba una cruz estática en el centro de la pantalla y que permitía a los participantes descansar con el fin de evitar un efecto de fatiga que no nos permitiera obtener datos fiables. Se pedía a los sujetos que tras detectar un estímulo *oddball* apretaran un botón con la mano derecha, con el fin de registrar el tiempo de reacción frente a estos estímulos diana y los errores de omisión (no contestar al aparecer un estímulo diana) y comisión (contestar tras un estímulo estándar).



**Figura 5.** Representación visual de la estructura de la tarea *oddball* realizada durante la adquisición de una secuencia de RMf. Tras la presentación del estímulo *oddball* los sujetos respondían apretando un botón con la mano derecha.

### 4.4. Adquisición y análisis de las imágenes de resonancia magnética

Desde que en 1973 Lauterbur publicara la primera imagen por RM, en 1977 Mansfield demostrara lo rápido que podían adquirirse imágenes mediante la técnica de adquisición llamada EPI (*echo-planar imaging*), y que en ese mismo año se creara el primer escáner de RM para humanos (562), el campo de la Imagen por RM ha experimentado un desarrollo explosivo, convirtiéndose en una de las técnicas diagnósticas más utilizadas en el mundo occidental. En aquella época, se trataba de una técnica que evitaba los posibles riesgos que podían conllevar otras técnicas como la tomografía computerizada que requerían de radiación ionizante, pudiendo, además, obtener imágenes del cuerpo en cualquiera de sus planos, lo que era un valor añadido para el diagnóstico y las tareas de investigación (562–564).

Durante las décadas siguientes, la técnica se popularizó ampliamente y se instalaron miles de escáneres en centros médicos, lo que llevó a la especialización en el manejo de estas técnicas y al avance en la investigación de los principios físico-biológicos del fenómeno de la imagen por RM. Esta investigación culminó con el desarrollo de secuencias capaces de medir la función cerebral. Ogawa et al. (1990) investigaron la posibilidad de examinar la fisiología cerebral con la ayuda de la RM y sus estudios sobre la señal dependiente de la oxigenación de la sangre (BOLD, *blood-oxygen-level dependent*) dieron pie a la aparición de la RMf, que permitía estudiar la actividad y, años más tarde, la conectividad funcional en el sistema nervioso central con una aproximación mínimamente invasiva, a diferencia de otras técnicas como la tomografía por emisión de positrones (PET, de sus siglas en inglés)(562). A principios de la década de los 90 aparecieron los primeros estudios de RMf en los que se estudiaba la activación de diferentes regiones cerebrales mediante la señal BOLD, y, a partir de entonces, el número de estudios científicos que han utilizado tanto la imagen por RM como la RMf ha crecido exponencialmente (562,564). En esta sección se describen las diferentes técnicas de

RM utilizadas en los estudios de esta tesis. En cualquier caso, los pasos del procesado, análisis y corrección del ruido de las imágenes pueden ser consultadas en detalle en la sección de Métodos de cada uno de los artículos (ver [4. Resultados](#)).

### 4.4.1. RM estructural

La RM utiliza campos magnéticos muy potentes para crear imágenes o mapas del tejido biológico, en el caso de la Neuroimagen, del encéfalo. Normalmente, la RM crea imágenes a partir de los núcleos de los átomos de hidrógeno que son los más abundantes en el cuerpo humano. Grosso modo, los núcleos de los átomos, en condiciones normales, presentan un movimiento rotatorio llamado *spin*. Cuando situamos este núcleo en un fuerte campo magnético, este movimiento de precesión se alinea con el eje del campo magnético, bien en sentido paralelo (o de baja energía) o antiparalelo a este (o de alta energía). Al aplicar un pulso de radiofrecuencia a estos núcleos se produce una excitación de los núcleos que estaban en un estado de baja energía, que cambian su estado a uno de más alta energía. Una vez que la fuente de energía (pulso de radiofrecuencia) desaparece, comienza el proceso de relajación en el que los núcleos vuelven al estado de baja energía, liberando la energía adquirida que es captada por medio de las bobinas del escáner y sirve como señal de RM (562).

Algunos tipos de análisis de las secuencias de neuroimagen estructural, como la morfometría basada en vóxel (VBM, *voxel-based morphometry*) o el análisis de diferentes propiedades de la superficie cortical, pueden proporcionar información sobre la anatomía mesoscópica de los grupos estudiados. En nuestro caso, sin embargo, **en ambos estudios** utilizamos la imagen estructural como ayuda al preprocesado de las imágenes funcionales, para normalizar a un espacio de referencia común y realizar una segmentación de tejidos, obteniendo tres compartimentos de interés: sustancia gris, blanca y LCR. Concretamente, las señales funcionales provenientes de la sustancia

blanca y el LCR fueron utilizadas para limpiar fuentes de ruido un nuestro tejido de interés principal, la sustancia gris, que es donde se observan los cambios funcionales relacionados con la actividad sináptica. Igualmente, en el **Estudio 2**, utilizamos un tipo concreto de imagen estructural, una **secuencia potenciada en T1 sensible a los acúmulos de neuromelanina** para identificar el LC en las imágenes de los participantes en el estudio.

### 4.4.2. RM funcional

La RMf crea imágenes de cambios fisiológicos asociados a la actividad neuronal. El procesamiento de información electroquímica en las neuronas requiere del consumo de energía. Estas fuentes de energía, fundamentalmente glucosa y oxígeno, son transportadas por la circulación sanguínea, y el oxígeno, concretamente, por las moléculas de hemoglobina. A través de la respuesta hemodinámica, este oxígeno se libera en aquellas neuronas que están activas en mayor proporción que en aquellas que no lo están, de modo que las concentraciones de oxihemoglobina y deoxihemoglobina (es decir, hemoglobina oxigenada y deoxigenada) varían regionalmente en función de la actividad neuronal. Gracias a las propiedades magnéticas de la deoxihemoglobina, que distorsionan el campo magnético afectando ciertos tipos de imágenes por RM, estos cambios arrojan una medida de la función cerebral basada en la señal BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent signal*). Partiendo de estos datos, se han desarrollado diferentes diseños experimentales y métodos de análisis con el fin de estudiar los procesos biológicos cerebrales implicados en diferentes tareas sensoriales, cognitivas, emocionales o conductuales, o aquellos subyacentes a diferentes trastornos.

Durante la adquisición de una secuencia funcional en estado de reposo, o *resting state*, se adquieren las imágenes de RMf pidiéndole a los sujetos que no hagan ninguna tarea cognitiva concreta. Esto supone una buena aproximación para estudiar los patrones de conectividad funcional sin la implicación de ningún proceso psicológico interfe-

rente. Los análisis de conectividad funcional se basan en que en estado de reposo la fluctuación de la señal BOLD correlaciona a través del tiempo entre diferentes regiones cerebrales que pertenecen a una misma red funcional o que reflejan procesos cerebrales intrínsecos independientes de estímulos externos (566). Concretamente, estas correlaciones se producen por la actividad neuronal sincronizada dando lugar a fluctuaciones sincronizadas de la señal BOLD (567).

Tradicionalmente, los análisis de CF se han basado en contrastar una hipótesis previa. Para ello, estos análisis, conocidos como análisis basados en semillas o *seed-based analyses*, extraen la señal BOLD de una región de interés, o semilla, o de varias de ellas, correlacionando el patrón de oscilación entre esta(s) área(s) de interés con el resto de regiones cerebrales. Uno de los problemas que plantea este tipo de análisis es que no siempre existe el suficiente conocimiento previo sobre las regiones o las funciones cerebrales subyacentes a un proceso o patología. Recientemente, han aparecido diferentes tipos de análisis de CF basados en vóxeles, o *voxel-based*, con la intención de sortear este problema. Se conocen con el nombre general de *global degree network measures*. Con ellos se generan, con intención exploratoria, mapas de correlaciones en los que obtenemos un coeficiente de correlación que nos informa de cuan conectado está cada uno de los vóxeles que componen una imagen con el resto de vóxeles. Posteriormente, los resultados de estos análisis pueden ser utilizados como semillas en análisis de CF *seed-based* tradicionales (568). Una de estas medidas de CF global es el **contraste de conectividad intrínseca** (ICC, *intrinsic connectivity contrast*), que ha sido utilizado en los **Estudio 1** y **2** de esta tesis. Tras obtener los mapas de correlaciones, en el Estudio 1 además se utilizó un **análisis *seed-based*** utilizando como *seed* o semilla el resultado del análisis de ICC.

Igualmente, tras el análisis *voxel-based*, en el **Estudio 2** se realizó un **análisis de interacciones psicofisiológicas** (PPI, *psychophysiological interactions*), examinando la conectividad entre el *seed* de interés y otras regiones cerebrales en función de

una tarea presentada dentro del escáner (tarea de *oddball* visual). Los análisis de PPI se basan en que los procesos mentales (o ‘factor psicológico’), evocados por una condición estimular o la conducta del sujeto, modulan la influencia de un área cerebral sobre otra (‘factor fisiológico’). Así, se utilizan las series temporales de activación de regiones semilla para predecir cambios en la activación de otras áreas en interacción con los bloques del diseño experimental.

### 4.5. Análisis de datos clínicos, conductuales y neuropsicológicos

El análisis de los datos clínicos, conductuales y neuropsicológicos se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). En el caso del **Estudio 1**, se llevaron a cabo pruebas t para muestras independientes para comparar las variables cuantitativas entre ambos grupos (CS vs H-EAIT). En el **Estudio 2**, las comparaciones de estas variables entre los tres grupos se realizaron con un análisis de varianza (ANOVA, *Analysis of Variance*). Además, con el fin de evaluar las posibles asociaciones entre los resultados de imagen y variables clínicas y neuropsicológicas, en ambos Estudios se incluyó un análisis de correlaciones de Pearson de dos colas. En ambos trabajos, los *outliers* o casos atípicos con más de 3 desviaciones estándares fueron eliminados de todos los análisis.





# Resultados

---



## 5. Resultados

### 5.1. Estudio 1

#### **Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease**

Inés del Cerro, Mirta F. Villarreal, Carolina Abulafia, Bárbara Duarte-Abritta, Stella M. Sánchez, Mariana N. Castro, Hernán Bocaccio, Isidre Ferrer, José Manuel Menchón, Gustavo Sevlever, Charles B. Nemeroff, Carles Soriano-Mas, Salvador M. Guinjoan

Journal of Psychiatric Research, 2020, 123: 81-88

*Factor de Impacto (JCR 2019): 3.745*

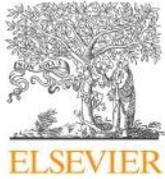
---

#### **Resumen de los resultados:**

En línea con la hipótesis planteada en esta investigación, los resultados del Estudio 1 mostraron que dentro de la región del tronco encefálico los H-EAIT mostraron alteraciones de CF únicamente en el LC. Al caracterizar estos cambios, hallamos que existía una alteración de la conectividad entre el LC y diferentes regiones del cerebelo, que se asociaron con medidas de memoria y rendimiento cognitivo. A continuación se describen los resultados en detalle:

1. Los H-EAIT mostraron puntuaciones significativamente más bajas en MMSE, RAVLT, recuerdo diferido de la WMS-III, subescala de Color en test Stroop, y el subtest de Vocabulario del WAIS-IV.
2. Los H-EAIT, comparados con los CS, exhibieron un decremento de la conectividad global en el LC izquierdo.
  - 2.1. La conectividad global del LC en el total de la muestra correlacionó negativamente con las puntuaciones del BDI.

- 2.2. La conectividad global del LC en el total de la muestra se asoció positivamente con las puntuaciones en MMSE y aprendizaje total y recuerdo diferido del RAVLT.
3. En comparación con los CS, los H-EAIT manifestaron una disminución de la CF entre el LC izquierdo y diferentes áreas del cerebelo, incluyendo Crus I bilateral, lóbulo VI izquierdo, y lóbulo IX izquierdo.
  - 3.1. La CF entre LC y Crus I izquierdo se correlacionó positivamente con el recuerdo diferido en la prueba RAVLT en los sujetos del grupo H-EAIT.
  - 3.2. La CF entre LC y lóbulo VI izquierdo se asoció de manera positiva con la puntuación de recuerdo diferido en la prueba RAVLT en los controles sanos.



Contents lists available at ScienceDirect

## Journal of Psychiatric Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jpsychires](http://www.elsevier.com/locate/jpsychires)

## Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease

Inés Del Cerro<sup>a,b,c</sup>, Mirta F. Villarreal<sup>d,e,f</sup>, Carolina Abulafia<sup>d,f</sup>, Bárbara Duarte-Abritta<sup>d,f</sup>, Stella M. Sánchez<sup>d,f</sup>, Mariana N. Castro<sup>d,f,g</sup>, Hernán Bocaccio<sup>d,f</sup>, Isidre Ferrer<sup>h,i,j</sup>, José Manuel Menchón<sup>a,b,c</sup>, Gustavo Sevlever<sup>f,k</sup>, Charles B. Nemeroff<sup>l</sup>, Carles Soriano-Mas<sup>a,c,m,\*</sup>, Salvador M. Guinjoan<sup>d,f,g,\*\*</sup>

<sup>a</sup> Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Feixa Llarga S/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department of Clinical Sciences, Bellvitge Campus, Barcelona University, Faculty of Medicine, Feixa Llarga, S/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Network Center for Biomedical Research on Mental Health (CIBERSAM), Av. Monforte de Lemos, 3-5, Pabellón 11, Planta 0, 28029, Madrid, Spain

<sup>d</sup> Grupo de Investigación en Neurociencias Aplicadas a Las Alteraciones de La Conducta (INAAC), FLENI, Montañeses, 2325, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>e</sup> Department of Physics, University of Buenos Aires, Pabellón I, Ciudad Universitaria, 1428, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>f</sup> National Council for Scientific and Technological Research (CONICET), Godoy Cruz, 2290, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>g</sup> Department of Psychiatry, FLENI and Department of Psychiatry and Mental Health, School of Medicine, University of Buenos Aires, Montañeses, 2325, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>h</sup> Department of Pathology and Experimental Therapeutics, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, Facultat de Medicina y Ciencias de La Salud, Campus de Bellvitge, Pavelló de Govern, Feixa Llarga, S/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>i</sup> Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Pathologic Anatomy, Bellvitge University Hospital, Feixa Llarga S/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

<sup>j</sup> Network Center for Biomedical Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Valderrebollo, 5, 28031, Madrid, Spain

<sup>k</sup> Department of Molecular Biology, FLENI, Montañeses, 2325, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>l</sup> Department of Psychiatry, Dell University of Texas at Austin and Institute of Early Life Adversity Research, Dell Medical School, The University of Texas, Austin, TX, 78712, USA

<sup>m</sup> Department of Psychobiology and Methodology in Health Sciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Carrer Fortuna, Edifici B, 08193, Bellaterra (Cerdanyola Del Vallès), Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Locus coeruleus  
Functional connectivity  
Alzheimer's disease offspring  
Cerebellum  
Biomarkers  
Neurodegeneration

## ABSTRACT

Prevention and early treatment strategies for Alzheimer's disease (AD) are hampered by the lack of research biomarkers. Neuropathological changes in the Locus Coeruleus (LC) are detected early in AD, and noradrenergic plays a neuroprotective role in LC projecting areas. We assessed functional connectivity (FC) of the brainstem in asymptomatic individuals at familial risk for AD hypothesizing that FC of the LC will be decreased in relation to not-at-risk individuals. Thirty-one offspring of patients with late-onset AD (O-LOAD) (22 females; mean age  $\pm$  SD = 50.36  $\pm$  8.32) and 28 healthy controls (HC) (20 females; mean age  $\pm$  SD = 53.90  $\pm$  8.44) underwent a neurocognitive evaluation and a resting-state functional magnetic resonance imaging acquisition. In FC analyses we evaluated whole-brain global connectivity of the brainstem area, and subsequently assessed seed-to-voxel FC patterns from regions showing between-group differences. O-LOAD individuals scored worse in neurocognitive measures of memory and overall functioning ( $p_{FDR} < 0.05$ ). In imaging analyses, we observed that O-LOAD individuals showed decreased global connectivity in a cluster encompassing the left LC (peak =  $-4, -34, -32, p_{TFCE} < 0.05$ ). Seed-to-voxel analyses revealed that this finding was largely explained by decreased connectivity between the LC and the cerebellar cortex. Moreover, FC between the LC and the left cerebellum correlated positively with delayed recall scores. FC between the LC and the cerebellar cortex is

\* Corresponding author. Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Feixa Llarga S/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain.

\*\* Corresponding author. Service of Psychiatry, FLENI Foundation, Montañeses, 2325 5th floor, C1428AOK, Buenos Aires, Argentina.

E-mail addresses: [idelcerro@idibell.cat](mailto:idelcerro@idibell.cat) (I. Del Cerro), [mwillarreal@fleni.org.ar](mailto:mwillarreal@fleni.org.ar) (M.F. Villarreal), [carolina.abulafia@gmail.com](mailto:carolina.abulafia@gmail.com) (C. Abulafia), [bmduarteabritta@gmail.com](mailto:bmduarteabritta@gmail.com) (B. Duarte-Abritta), [stellamarissanchez89@gmail.com](mailto:stellamarissanchez89@gmail.com) (S.M. Sánchez), [mariananaircastro@gmail.com](mailto:mariananaircastro@gmail.com) (M.N. Castro), [hbocaccio@gmail.com](mailto:hbocaccio@gmail.com) (H. Bocaccio), [8082ifa@gmail.com](mailto:8082ifa@gmail.com) (I. Ferrer), [jmenchon@bellvitgehospital.cat](mailto:jmenchon@bellvitgehospital.cat) (J.M. Menchón), [gsevlever@fleni.org.ar](mailto:gsevlever@fleni.org.ar) (G. Sevlever), [cnemeroff@austin.utexas.edu](mailto:cnemeroff@austin.utexas.edu) (C.B. Nemeroff), [csoriano@idibell.cat](mailto:csoriano@idibell.cat) (C. Soriano-Mas), [sguinjoan@fleni.org.ar](mailto:sguinjoan@fleni.org.ar) (S.M. Guinjoan).

<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.01.018>

Received 21 October 2019; Received in revised form 27 January 2020; Accepted 27 January 2020

0022-3956/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

decreased in the healthy offspring of patients with LOAD, such connectivity measurements being associated with delayed memory scores. The assessment of FC between the LC and the cerebellum may serve as a biomarker of AD vulnerability.

## 1. Background

Alzheimer's disease (AD) is the leading cause of dementia. Prevention and early treatment strategies are essential to reduce its enormous socioeconomical costs, although, to date, their development has been hampered by the lack of neurobiological markers of preclinical and early disease stages. At the neuropathological level, AD is characterized by the accumulation of intracellular tau neurofibrillary tangles (NFTs) and extracellular beta amyloid (A $\beta$ ) plaque deposition. Nevertheless, at symptom onset, NFTs and A $\beta$  plaques are typically widespread distributed throughout the brain, which results in a non-reversible neurodegeneration encompassing neural dysfunction, massive loss of synapses, and alterations in different neurotransmitter systems (Guliano et al., 2018).

Late-onset Alzheimer's disease (LOAD) is the most common variant of the disorder, with an estimated 95% of AD patients developing the disorder after 65 years of age (Reitz et al., 2011). Nonetheless, AD-related neuropathological signs may already be present in individuals, although only a small percentage of these will show clinical manifestations of the disorder (Braak and Del Tredici, 2011). Family history of AD has been shown to be a significant risk factor for a malignant course (Fratiglioni et al., 1993). Different genetic variants have been associated with LOAD (Kunkle et al., 2019), but the precise mechanisms of such increased risk remain unknown.

The Locus Coeruleus (LC) has been suggested to be one of the initial sites of NFTs deposition in AD (Braak and Del Tredici, 2011; Zarow et al., 2003). Indeed, neuropathological studies have revealed that "pretangle" tau lesions are frequently present in the LC of individuals under 30 years of age (Braak and Del Tredici, 2011), and, more recently, tau alterations in the LC of asymptomatic individuals were shown to be related with multiple neurobiological events linked to neuronal malfunctioning and degeneration (Andrés-Benito et al., 2017). Located in the dorsal pontine tegmentum, the LC is the major source of noradrenaline (NA) in the central nervous system (CNS), presenting a wide distribution of ascending and descending projections to different cortical and subcortical targets (Weinshenker, 2008). Notably, alterations in the LC and NA neurotransmission have been associated with more A $\beta$  plaques deposition in these projection areas (Heneka et al., 2006), and, indeed, LC volume is negatively correlated with Braak's stages (Theofilas et al., 2017). Likewise, in patients with AD, reduced structural integrity of the LC has been associated with earlier severity and disease duration (Grudzien et al., 2007; Zarow et al., 2003), and diminished global cognitive function (Hämmerer et al., 2018) and cognitive reserve (Clewett et al., 2016).

From the LC, NFTs have been suggested to propagate to other areas such as the hippocampus and the entorhinal cortex through inter-neuronal tau seeding (Pamphlett and Kum Jew, 2015). However, animal models have failed to support this idea (Iba et al., 2015), although other LC-NA mechanisms may be contributing to AD progression. Thus, there is evidence that in target regions, NA regulates the secretion of other neurotransmitters and neuromodulators such as ATP, neuropeptide Y, BDNF and galanin, therefore playing an important role in neuroprotection, neurogenesis, neuronal plasticity, cellular energy metabolism and control of excitotoxicity (Marien et al., 2004). Critically, NA also acts on microglia to regulate neuroinflammatory processes and facilitate A $\beta$  plaques clearance, both in LC neurons and in LC projection areas (Heneka et al., 2015), including the hippocampus, the parahippocampal and fusiform gyri, and the cerebellum (Jacobs et al., 2015). These findings have also their reflection at the systems level, where neuroimaging studies have shown how functional connectivity

(FC) of the LC with medial temporal lobe areas is correlated with memory performance in healthy controls (Jacobs et al., 2015). All in all, these findings are compatible with the general idea that LC degeneration critically contributes to AD pathogenesis (Braak and Del Tredici, 2011; Iba et al., 2015; Theofilas et al., 2017).

In the present study, we used resting-state functional magnetic resonance imaging (rsfMRI) to compare functional connectivity (FC) of the LC between a sample of asymptomatic middle-aged adults with a parental history of LOAD and an equivalent group of participants without parental history of AD. Because other monoaminergic and cholinergic neurotransmitter systems similarly originate in the brainstem, including the dorsal raphe nucleus (Theofilas et al., 2015) or the pedunculopontine nucleus (Rüb et al., 2016), and have also been related to AD we initiated an exploration of the regions within the upper brainstem showing global FC alterations in the offspring of LOAD patients (O-LOAD). Next, to identify the brain regions allegedly losing the brainstem modulatory input, we also assessed the specific whole-brain pattern of FC alterations from the upper brainstem and its association with clinical and neurocognitive variables. We put forward three hypotheses: first, that within the upper brainstem, the LC will show the largest global FC alterations in the O-LOAD group; second, we hypothesized that this same group of participants will show reduced FC between the LC and regions receiving direct noradrenergic input; and third, we anticipated that this abnormal pattern of FC will be correlated with neurocognitive measures related to cognitive decline in AD.

## 2. Methods

### 2.1. Participants

A total of 31 offspring of LOAD patients (O-LOAD) participated in the study. Parental diagnosis of LOAD was based on clinical criteria (i.e., DSM 5 criteria, Mini-Mental State Examination (MMSE) scores < 25, and Clinical Dementia Rating (CDR) scores  $\geq$  1). Based on Dubois et al. (2007), additional diagnostic criteria were also considered, such as an impaired recall in the Rey Auditory-Verbal Learning Test (RAVTL) not improving with recognition, and, when available, evidence of medial temporal lobe atrophy on Magnetic Resonance Imaging (MRI) or a Pittsburgh Compound B-Positron Emission Tomography (PiB-PET) scan positive for amyloid deposition. The rest of inclusion criteria for O-LOAD subjects were: 1) being between 30 and 65 years of age at the time of recruitment; 2) having at least 7 years of formal education in order to be able to complete the neurocognitive evaluation; 3) a MMSE score > 26 points; 4) no current evidence of neurological or serious medical conditions; 5) no history or current evidence of psychiatric disorder or substance abuse (except for nicotine); and 6) a Hachinski Ischaemia Scale score < 4 points with the aim of excluding subjects with vascular-derived cognitive impairment.

The control sample included 28 healthy controls (HC) comparable in age, gender, education level and depressive symptoms with O-LOAD individuals. Subjects from this comparison group underwent a complete medical evaluation in order to exclude participants with current or lifetime psychiatric or neurologic disorder, as well as current or past use of psychotropic medication. Inclusion criteria were the same as for the O-LOAD group, but participants from this group were required to have no familial history of neurodegenerative disease.

Sociodemographic and clinical characteristics of all participants are described in Table 1. Written informed consent was obtained from all participants after a complete description of the study, which was

**Table 1**  
Sociodemographic, clinical and neurocognitive characteristics of the study samples.

	O-LOAD (n = 31)		HC (n = 28)		Analysis		
	N	%	N	%	$\chi^2$	df	p <sup>a</sup>
Gender, female	22	70.97	20	71.43	1.42	1	0.234
	Mean	SD	Mean	SD	t	df	p <sup>a</sup>
Age, years	50.36	8.32	53.90	8.44	-1.62	57	0.110
Education, years	17.75	2.76	17.47	2.99	0.38	56	0.709
BDI	8.50	6.56	7.80	7.34	-0.37	53	0.710
MMSE	28.87	1.20	29.61	0.69	2.92	48	0.005 <sup>b</sup>
RAVLT							
RAVLT total learning	43.74	7.00	47.82	9.01	1.95	57	0.056
Recognition	12.97	1.92	14.00	1.12	2.55	49	0.014
Delayed Recall	8.52	2.99	10.36	2.13	2.70	57	0.009 <sup>b</sup>
TMT-A	31.26	7.60	31.64	9.97	0.17	57	0.867
TMT-B	71.13	18.75	64.57	18.22	-1.35	56	0.182
SCWT							
Word task	88.82	13.38	97.77	18.43	2.05	52	0.045
Color task	63.14	7.60	70.08	10.10	2.87	52	0.006 <sup>b</sup>
Color-Word task	38.00	5.03	42.80	9.08	2.42	51	0.025
Semantic fluency	20.84	4.09	22.44	5.01	1.34	56	0.185
Phonological fluency	18.10	3.83	18.33	3.68	0.24	56	0.812
TOL							
Total movements	33.68	16.45	32.81	13.68	-0.21	53	0.833
Execution time	247.18	105.68	218.33	86.58	-1.11	53	0.274
Total time	327.71	132.88	281.26	110.55	-1.41	53	0.165
Boston Naming Test	52.87	4.85	53.52	3.27	0.59	56	0.560
WAIS-IV							
Digit Span Forward	9.68	2.17	9.46	1.97	-0.39	57	0.695
Digit Span Backward	6.68	1.68	7.11	2.47	0.79	57	0.434
Similarities	25.48	4.55	26.62	4.06	0.98	55	0.330
Vocabulary	45.06	9.03	50.62	5.69	2.82	51	0.007 <sup>b</sup>

Abbreviations: BDI = Beck's Depression Inventory; HC = healthy controls; MMSE = Mini-mental State Examination; RAVLT = Rey Auditory Verbal Learning Test; O-LOAD = offspring of late-onset Alzheimer's disease patients; SD = standard deviation; SCWT = Stroop Color and Word Test; TMT = Trail Making Test; TOL = Tower of London; WAIS-IV = Wechsler Adult Intelligence Scale, fourth edition.

<sup>a</sup> Uncorrected p values. FDR correction for multiple testing was applied to neurocognitive variables (from MMSE scores downwards).

<sup>b</sup> FDR-corrected p-value = 0.045.

performed in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethical Committee of Clinical Research of Fleni Foundation.

## 2.2. Neurocognitive assessment

Participants underwent a neuropsychological assessment with a battery frequently used and widely accepted for AD assessment (described in **Supplementary Material**). These scores are reported in **Table 1**.

## 2.3. Image acquisition

Imaging data were collected on a 3T Signa HDx (General Electric, Milwaukee, Wisconsin) equipped with an eight-channel phased-array head coil and single-shot echo planar imaging software. The whole measurement consisted in a rsfMRI scan followed by a structural MRI scan. The functional sequence consisted of a gradient recalled acquisition in the steady state (repetition time, 2000 msec; echo time, 35 msec; and pulse angle, 90°) in a 24-cm field of view, with a 64 x 64 pixel

matrix (inplane resolution of 3.75 × 3.75 mm) and a slice thickness of 4 mm. Thirty-three interleaved sections, parallel to the anterior-posterior commissure line, were acquired to generate 200 whole-brain volumes, excluding five initial dummy volumes. Participants were instructed to relax, stay awake, and keep their eyes closed. For anatomical reference, we acquired a T1 weighted 3D inversion recovery-prepared spoiled gradient echo sequence with 120 contiguous slices (repetition time, 6604 msec; echo time, 2796 msec; flip angle, 15°) in a 24-cm field of view, with a 256 x 256 pixel matrix (in-plane resolution of 1.02 × 1.02 mm) and a slice thickness of 1.20 mm.

## 2.4. Preprocessing and denoising

Imaging data processing was performed on a Microsoft Windows platform running MATLAB version 9.3 (R2017b) (The MathWorks Inc, Natick, Massachusetts) and the MATLAB-based CONN-fMRI Functional Connectivity toolbox, version 17.f (Cognitive and Affective Neuroscience Laboratory, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA). The default CONN preprocessing pipeline was applied. In order to correct motion across volumes, functional images were aligned to the first volume using a least-square minimization and a six-parameter rigid body spatial transformation. Moreover, unwarping and slice-timing correction were also applied. Next, we ran the ART-based automatic outlier detection for later scrubbing. Specifically, functional volumes were deemed outliers if their signal intensity deviated more than 5 standard deviations from whole series mean signal intensity or showed evidence of displacement superior to 0.9 mm in relation to the preceding volume. Both functional and structural images were then subjected to gray and white matter and cerebrospinal fluid segmentation, and a bias correction was performed to remove smoothly varying intensity differences across images. Finally, structural and functional data were spatially normalized in parallel (i.e., in independent preprocessing streams, as recommended when FieldMaps or some other images to compute spatial inhomogeneities have not been acquired) through non-linear transformations to the Montreal Neurological Institute (MNI) space. Images were resliced to a 2-mm isotropic resolution and smoothed with an 8-mm full-width at half-maximum (FWHM) isotropic Gaussian kernel.

After preprocessing, imaging data were denoised from residual movement and physiological noise (i.e., respiration, cardiac pulsations, slow involuntary head position motion or 'spike-like' movements (Parkes et al., 2018)). Specifically, denoising steps included: a temporal despiking, regressing out confounding factors (i.e., BOLD signal small ramping effects at the beginning of each session, the six rigid body realignment parameters and their first order derivatives), an anatomical component-based noise correction method (aCompCor, which reduces physiological and movement noise), the ART scrubbing protocol, linear detrending to remove the linear signal drift, and band-pass filtering to restrict the analysis to a range of frequencies of interest (0.008–0.09 Hz). Importantly, after scrubbing volume censoring, no subjects were removed from the analysis because in all cases functional sequences were at least > 4 min (Parkes et al., 2018).

## 2.5. Statistical analyses

### 2.5.1. Behavioral analyses

Clinical and neurocognitive variables were compared between the two groups with independent-sample t-tests in SPSS v.22 (SPSS Inc., Chicago, IL). P-values from these analyses were false discovery rate (FDR) corrected for multiple comparisons.

### 2.5.2. Imaging analyses

All functional connectivity analyses were also performed with the CONN toolbox 17.f. Significance threshold was set at  $p < 0.05$ , Family-Wise Error (FWE) corrected within our masks of interest (see below). Specifically, statistical significance was estimated by means of a voxel-wise non-parametric permutation testing with 5000 permutations,

using the Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) method as implemented in the SPM-TFCE toolbox v156 (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/tfce/>).

**2.5.2.1. Voxel-to-voxel analysis.** A global degree network measure approach was used in this first part of the analyses. Network measures of degree summarize the number of connections of any given voxel with the rest of gray matter voxels. Specifically, here we used the intrinsic connectivity contrast (ICC), which does not require any *a priori* information (i.e., to select a region of interest or using an arbitrary correlation threshold (Martuzzi et al., 2011)). Voxel-to-voxel bivariate correlation coefficients were computed from the residual BOLD time series, obtaining a whole-brain gray matter map where voxel intensities accounted for the degree of correlation of each voxel with the rest of voxels. Such maps were normalized to fit a Gaussian distribution with zero mean and unitary variance. Realignment parameters, scan-to-scan changes in global BOLD signal (Z-scores), framewise displacement time-series (in mm), and outlier scans were included as nuisance parameters in this first-level analysis. Next, they were included in a second-level (between-group) analysis, and an independent two-sample *t*-test was performed to derive *t*-statistic maps comparing global connectivity patterns between HC and the O-LOAD group. As per our hypotheses, second level analyses were restricted to a 4 446-voxel mask encompassing the midbrain and the pons. This mask was created with the Wake Forest University Pick-atlas toolbox implemented in SPM12.

**2.5.2.2. Seed-to-voxel analysis.** In order to characterize the specific connectivity patterns of the regions showing between-group differences in voxel-to-voxel analyses, we performed a seed-to-voxel analysis. Specifically, we used as seed of interest the signal from an 8-voxel cluster with its peak located at  $x = -4$ ,  $y = -34$ ,  $z = -32$  MNI coordinates (see results, below). This cluster corresponded to the location of the LC according to previous reports (Keren et al., 2009).

In first-level analyses, we obtained individual matrices of Pearson's bivariate correlation coefficients between the seed time-series and the time course of all other whole-brain voxels. These correlations were later converted to normally distributed scores using the Fisher's transform in order to perform second-level analyses. We estimated positive and negative FC patterns independently for each group, thresholded at an uncorrected significance threshold of  $p < 0.001$ . These group specific patterns were then combined to create a mask to investigate between-group differences in second-level analyses, where a two-sample *t*-test between-group comparison was performed.

## 2.6. Correlations between imaging and clinical and neurocognitive variables

To evaluate the association of imaging with clinical and neurocognitive variables, we conducted a series of analyses with the extracted peak signals (i.e., first eigenvariables) from the above analyses. We used SPSS v.22 (SPSS Inc., Chicago, IL) to perform two-tailed Pearson's correlations between age and MMSE, RAVLT, Trail Making Test (TMT), Stroop Color and Word test (SCWT), fluency tests, Tower of London (TOL), Boston Naming Test, and Wechsler Adult Intelligence Scale fourth edition (WAIS-IV) scores. Extreme outliers (3 or more standard deviations) were removed from these analyses. Resulting *p*-values were FDR-corrected for multiple comparisons.

## 3. Results

### 3.1. O-LOAD individuals show impaired neurocognitive functioning

As can be seen in Table 1, in comparison to HC, the O-LOAD group scored lower in the MMSE ( $t = 2.921$ ;  $p_{FDR} = 0.045$ ), the RAVLT Delayed Recall ( $t = 2.699$ ,  $p_{FDR} = 0.045$ ), the SCWT Color ( $t = 2.820$ ;  $p_{FDR} = 0.045$ ) and the WAIS-IV Vocabulary ( $t = 2.820$ ;  $p_{FDR} = 0.045$ ) tests.

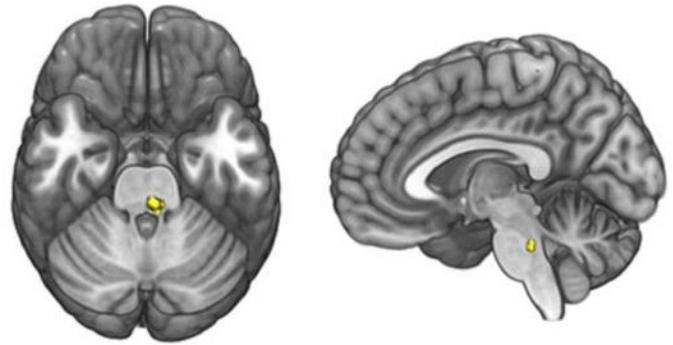


Fig. 1. Global connectivity was decreased in the O-LOAD group in a cluster encompassing the left LC, which is overlaid onto a brain template in MNI space.

### 3.2. LC global connectivity is impaired in O-LOAD individuals

The O-LOAD group, in comparison with HC, showed a decrease in global connectivity in a cluster encompassing the left LC (peak at  $x = -4$ ,  $y = -34$ ,  $z = -32$ ;  $k_E = 8$ ;  $p_{FWE} = 0.047$ ; TFCE = 168.36, see Fig. 1).

Global connectivity of this cluster was significantly correlated, at the whole sample level, with BDI scores (negative association), as well as with MMSE, RAVLT total learning and RAVLT delayed recall scores (positive associations) (see Table S1 and Fig. S1, in Supplementary Material). All these correlations were significant at the whole-sample level, but they were not at the within-group level, except for the correlation between left LC global connectivity degree and BDI score in the HC group, which was significant at an uncorrected threshold ( $r = -0.450$ ,  $p = 0.024$ ). In addition, we did not observe any significant between-group differences in these correlations.

### 3.3. LC-cerebellar functional connectivity alterations in O-LOAD

Among O-LOAD, compared with healthy controls, whole-brain seed-to-voxel analysis showed a decreased FC between the left LC and different clusters of the cerebellar cortex. These results are summarized in Table 2 and Fig. 2A.

Moreover, we observed that, in the O-LOAD group, the Delayed Recall score of the RAVLT correlated positively with the peak connectivity between the left LC and the left Crus I ( $r = 0.474$ ,  $p = 0.022$ ), while, in the HC group, this same neurocognitive score was associated with the peak connectivity between the left LC and the left lobule VI ( $r = 0.441$ ,  $p = 0.024$ ). See Fig. 2B. These correlations, however, were significant at an uncorrected threshold, and should therefore be interpreted with caution.

## 4. Discussion

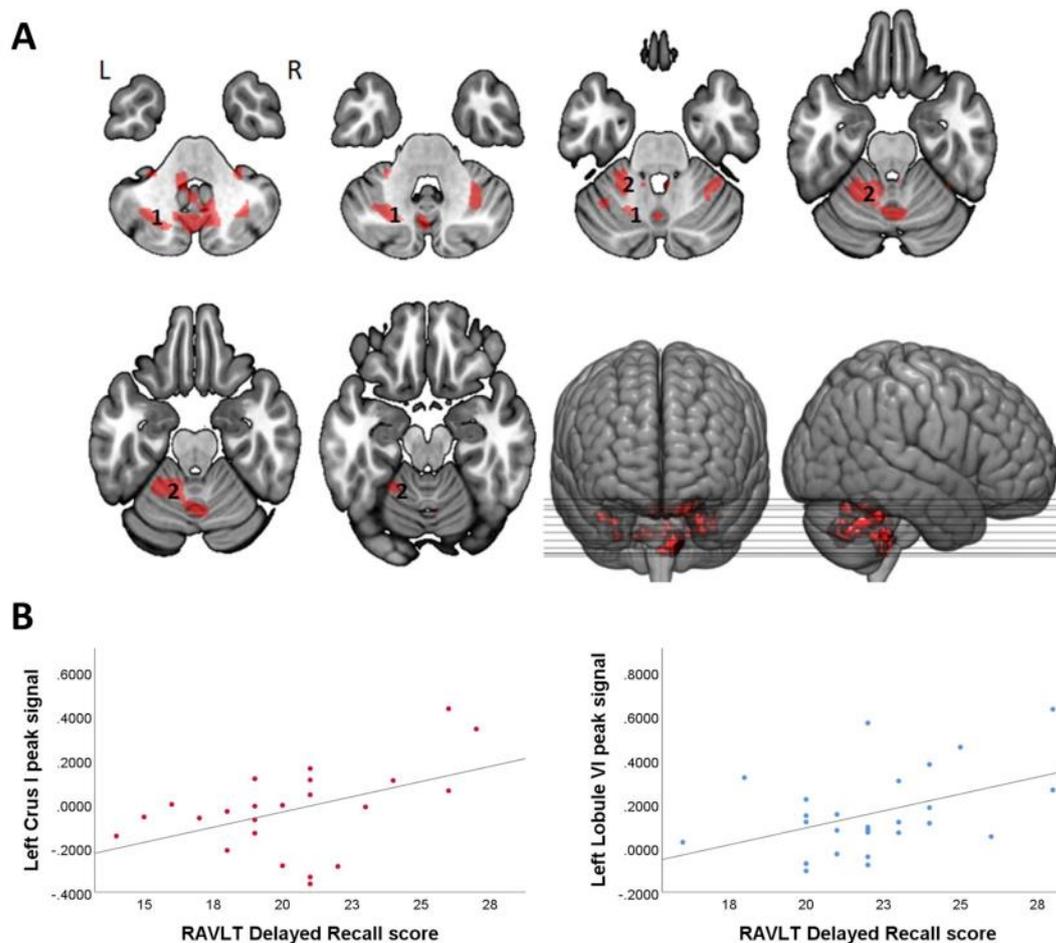
To the extent of our knowledge, this is the first study evaluating the functionality of the LC in asymptomatic offspring of LOAD patients. We used magnetic resonance imaging to assess functional connectivity from the LC during resting-state, and our observations produced three main

Table 2  
Seed-to-voxel analysis results.

Region	MNI Coordinates (x, y, z)	$k_E^a$	$p$ value <sup>a</sup>	TFCE value
Left Crus I	-24, -68, -36	628	0.018	418.86
Right Crus I	30, -64, -38	141	0.033	354.19
Left Lobule VI	-24, -50, -24	303	0.025	383.04
Left Lobule IX	-10, -42, 44	126	0.026	380.41

Abbreviations:  $k_E$  = cluster extent; MNI = Montreal Neurological Institute.

<sup>a</sup> All *p*-values were FWE-corrected,  $p < 0.05$ .



**Fig. 2.** Results of seed-to-voxel analyses and correlations with Delayed Recall scores. **a** Clusters of decreased FC between the left LC and different cerebellar clusters in O-LOAD individuals. **b** FC between LC-left Crus I (1 in **a**) was positively associated with RAVLT Delayed Recall score in the O-LOAD group (red dots). LC-left Lobule VI FC (2 in **a**) showed a positive correlation with RAVLT Delayed Recall score in HCs (blue dots). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

findings in relation to our hypotheses. First, within the upper brainstem, the LC was the sole region showing global connectivity alterations in the O-LOAD group. This is compatible with the observation that the LC is one of the very early locations in the CNS where AD-characteristic neurofibrillary changes originate (Andrés-Benito et al., 2017; Braak and Del Tredici, 2011). Second, in the O-LOAD group, the LC showed a decreased FC with the posterior cerebellum, a brain region receiving direct noradrenergic input. Finally, FC between the LC and the cerebellum was directly correlated with neurocognitive measures of memory and overall cognitive functioning.

Late-onset AD has traditionally been described as a sporadic syndrome, although the importance of genetic factors has also been posited (Kunkle et al., 2019). In this context, previous neuroimaging studies identified a wide range of alterations in subjects with a parental history of LOAD, including reduced gray matter content in medial temporal lobe (Donix et al., 2010) and fronto-parietal cortices (Honea et al., 2010), or increased activation of frontal and temporal, including the hippocampus, during memory encoding (Bassett et al., 2006), suggesting the existence of compensatory mechanisms. Nevertheless, to date, there are no imaging studies focused on the LC despite the rich literature describing neuropathological alterations in this structure in asymptomatic pre-disease stages (Andrés-Benito et al., 2017; Braak and Del Tredici, 2011; Grudzien et al., 2007; Theofilas et al., 2015).

This study is therefore the first to show that global connectivity of the LC is reduced in the offspring of LOAD patients. Remarkably, in addition, this finding seems relevant from a functional perspective,

since we have also observed that global LC connectivity is associated, across the both groups of participants, with cognitive and mood profiles. Interestingly, depression symptoms have been also identified as a risk factor for AD (Byers and Yaffe, 2011).

Decreased global connectivity of the LC in the O-LOAD group seems to be accounted for by decreased FC between the LC and the posterior cerebellum, which may therefore be a putative risk biomarker of AD and is likely to be underpinning the subclinical cognitive decline that characterizes increased-risk individuals. Multiple studies have described alterations in the cerebellar cortex of patients with AD. Structural MRI studies have observed cerebellar volume reductions in these patients (Tabatabaei-Jafari et al., 2017), which have been correlated with  $\beta$ -amyloid accumulation (Falcon et al., 2018), clinical severity and disease duration (Wegiel et al., 1999). Nevertheless, neuropathological studies have shown that while NFTs and  $\beta$ -amyloid plaques are typically observed in the cerebellum of early onset AD patients carrying mutations in amyloid precursor protein or presenilin genes (Sepuveda-Falla et al., 2011), in LOAD patients  $\beta$ -amyloid plaques are observed in the molecular and granular cell layers only in advanced disease stages, and NFTs are rarely observed (Thal et al., 2002; Wegiel et al., 1999). In LOAD, the cerebellum seems therefore less vulnerable than other brain areas to tau seeding and propagation from the LC (Thal et al., 2002), although reductions in Purkinje cell numbers and molecular layer gliosis have been described (Sjöbeck and Englund, 2001), probably linked to other neuropathological mechanisms.

For instance, the mechanisms related to decreased NA neurotransmission (see Introduction section, above) may be playing a relevant role. Indeed, LC-cerebellar connectivity has been recently shown to be disrupted after methylphenidate administration in healthy adults (Kline et al., 2016). Overall, NA neurotransmission is essential for arousal regulation and plays a critical modulatory role on cognitive functions including learning, memory and attention (Aston-Jones and Cohen, 2005; Weinschenker, 2008) by optimizing signal-to-noise ratio in regions receiving input from the LC (Devilbiss and Waterhouse, 2004). Within the cerebellar cortex, NA input from the LC has been shown to be involved in memory consolidation, probably through the modulation of the inhibitory (GABAergic) Purkinje cells, the induction of synaptic plasticity, and by enhancing the sensitivity to both excitatory and inhibitory inputs (Cartford et al., 2004). Likewise, LC-cerebellar connectivity has been related to increased arousal and enhanced attention and sensorimotor responses to salient stimuli (Zhang et al., 2016).

Interestingly, cerebellar neurodegeneration has also been observed in individuals with amnesic mild cognitive impairment (a-MCI), although restricted to the more anterior lobes (I to V), while progression to posterior lobes has been reported in AD (Toniole et al., 2018). Our pattern of FC disruption between the LC and the cerebellar cortex, mainly encompassing posterior cerebellar regions, seems to foretell a pattern of alteration characterizing individuals with AD. These posterior cerebellar regions are known to participate in cognitive processes (Stoodley et al., 2012), and the correlations found here between LC-posterior cerebellum connectivity and memory scores indicate that NA input may be modulating such cerebellar role in memory function. Importantly, these correlations were observed in both groups of participants. Therefore, cognitive alterations in subjects at increased risk for AD (i.e., decreased memory scores) could depend on quantitative differences with healthy subjects in normal physiological processes (i.e., decreased LC-cerebellar connectivity), and not necessarily on abnormal patterns of functional connectivity.

Several strengths and limitations of this study should be noted. We recruited and carefully characterized a sample of healthy individuals with a parental history of late-onset AD, which were compared with a control group of participants of similar age, gender, years of education and frequency of depressive symptoms. These subjects underwent a comprehensive clinical and neurocognitive assessment as well as a functional neuroimaging study. However, in global connectivity analyses, we restricted our search area to the upper brainstem (i.e., mid-brain and pons), and, therefore, potential alterations in other areas may have remained elusive to our analyses. However, our search was based on a-priori hypotheses, and, moreover, our analysis approach was potentially able to detect global connectivity alterations in other nuclei within our region of interest (i.e., involving other neurotransmitter systems). Nevertheless, the only significant finding was the LC cluster, therefore confirming our hypothesis. Likewise, we did not obtain a neuromelanin sensitive sequence, which would have allowed a more precise localization of the LC on a subject-wise basis. Therefore, the labeling as LC of the result from the global connectivity degree analyses was based on the coordinates from other studies (Keren et al., 2009), although our cluster may extend beyond the limits of this tiny structure. In this sense, the use of higher magnetic fields (e.g., 7T) for functional MRI (fMRI) acquisition should allow a more accurate delineation of FC alterations in relation to the anatomical boundaries of the LC. Lastly, also in relation with the lack of a neuromelanin sensitive sequence, we have not been able to quantify potential structural alterations in the LC of study participants, which could have nicely complemented our functional findings.

In conclusion, this study provides the first evidence of connectivity alterations in the LC of middle-aged cognitively normal subjects with familial history of LOAD. This is important because AD-related neuropathological signs have been found in this noradrenergic nucleus at very young ages, and, therefore, the extent of such alterations may be predictive of the risk to develop AD. Moreover, we have also identified

the circuit linking the LC with the posterior cerebellum as the neurobiological underpinning of the early and subtle neurocognitive deficits of individuals at familial risk for AD. Further research, preferably with longitudinal designs in samples of at-risk individuals, is warranted to explore how functional connectivity alterations of the LC contribute to progression of functional deficits, and to elucidate the precise nature of cerebellar pathology in early disease stages.

## Funding

This study was supported by the Agency for Management of University and Research Grants of the Catalan Government (2017SGR1247), the Carlos III Health Institute (Spain, Grant PIE14/00034 and CIBERSAM), FEDER Funds/European Regional Development Fund (ERDF) ('A way to build Europe'), the Agencia de Promoción, FONCYT, MINCYT (Argentina, PICT-2014-0633, SMG and MFV) and CONICET PIP-2015 grants (Argentina, SMG, MFV). IdC is supported by a Ph.D. FI Grant from AGAUR-Catalan Government (2016FI\_B 00712), grant co-funded by the European Social Fund (ESF) "ESF, Investing in your future" and the Banco Santander grant "Becas Iberoamérica: Santander Investigación". CA, BD, SMS, HB are doctoral fellows at CONICET. IF is supported by CIBERNED and CS-M is supported by a Miguel Servet contract (CPII16/00048) from the Carlos III Health Institute (Spain).

## Authors' contributions

SMG and MFV developed the scientific project. SMG evaluated participants. CA performed neurocognitive evaluations. IdC processed and analyzed neuroimaging and neurocognitive data. IdC, CA, BD-A, SMS, MNC, HB, IF, JMM, GS, CBN, CS-M and SMG analyzed the results. IdC, CS-M and SMG wrote the first draft of the manuscript. All authors edited and approved the final manuscript.

## CRedit authorship contribution statement

**Inés Del Cerro:** Formal analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization. **Mirta F. Villarreal:** Conceptualization, Methodology, Validation, Resources, Project administration. **Carolina Abulafia:** Investigation, Formal analysis. **Bárbara Duarte-Abritta:** Formal analysis. **Stella M. Sánchez:** Formal analysis. **Mariana N. Castro:** Investigation, Formal analysis. **Hernán Bocaccio:** Formal analysis. **Isidre Ferrer:** Writing - review & editing. **José Manuel Menchón:** Resources, Writing - review & editing. **Gustavo Sevlever:** Conceptualization, Resources. **Charles B. Nemeroff:** Conceptualization, Writing - review & editing. **Carles Soriano-Mas:** Formal analysis, Resources, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization, Supervision. **Salvador M. Guinjoan:** Conceptualization, Methodology, Validation, Investigation, Resources, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

## Declaration of competing interest

Dr. Charles B. Nemeroff's disclosures are as follows:

Consulting (last three years): Xhale, Takeda, Taisho Pharmaceutical Inc., Prismic Pharmaceuticals, Bracket (Clintara), Total Pain Solutions (TPS), Gerson Lehrman Group (GLG) Healthcare & Biomedical Council, Fortress Biotech, Sunovion Pharmaceuticals Inc., Sumitomo Dainippon Pharma, Janssen Research & Development LLC, Magstim, Inc., Navitor Pharmaceuticals, Inc., TC MSO, Inc., Intra-Cellular Therapies, Inc.

Stockholder: Xhale, Celgene, Seattle Genetics, Abbvie, OPKO Health, Inc., Network Life Sciences Inc., Antares, BI Gen Holdings, Inc., Corcept Therapeutics Pharmaceuticals Company, TC MSO, In., Trends in Pharma Development, LLC.

Advisory boards: American Foundation for Suicide Prevention

(AFSP), Brain and Behavior Research Foundation (BBRF), Xhale, Anxiety Disorders Association of America (ADAA), Skyland Trail, Bracket (Clintara), Laureate Institute for Brain Research (LIBR), Inc.

Board of directors: AFSP, Gratitude America and ADAA.

Income sources or equity of \$10 000 or more from: American Psychiatric Publishing, Xhale, Bracket (Clintara), CME Outfitters, Takeda, Intra-Cellular Therapies, Inc., Magstim and EMA Wellness.

Patents: Method and devices for transdermal delivery of lithium (US 6 375 990 B1). Method of assessing antidepressant drug therapy via transport inhibition of monoamine neurotransmitters by ex vivo assay (US 7 148 027 B2). Compounds, compositions, methods of synthesis, and methods of treatment (CRF receptor binding ligand) (US 8 551 996 B2).

All other authors have nothing to disclose nor have any financial relationships with commercial interests.

## Acknowledgments

We thank participants and their families, who accepted to be recruited without financial compensation and for the sake of advancing knowledge. We thank CERCA Programme / Generalitat de Catalunya for institutional support.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.01.018>.

Decreased global connectivity in the O-LOAD group was located in the region of the left LC. TFCE-corrected cluster overlaid onto ventral and sagittal views of an anatomical template are presented.

## References

- Andrés-Benito, P., Fernández-Dueñas, V., Carmona, M., Escobar, L.A., Torrejón-Escribano, B., Aso, E., Ciruela, F., Ferrer, I., 2017. Locus coeruleus at asymptomatic early and middle Braak stages of neurofibrillary tangle pathology. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 43, 373–392. <https://doi.org/10.1111/nan.12386>.
- Aston-Jones, G., Cohen, J.D., 2005. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu. Rev. Neurosci.* 28, 403–450. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.28.061604.135709>.
- Bassett, S.S., Yousem, D.M., Cristinzio, C., Kusevic, I., Yassa, M.A., Caffo, B.S., Zeger, S.L., 2006. Familial risk for Alzheimer's disease alters fMRI activation patterns. *Brain* 129, 1229–1239. <https://doi.org/10.1093/brain/awl089>.
- Braak, H., Del Tredici, K., 2011. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol.* 121, 171–181. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0789-4>.
- Byers, A.L., Yaffe, K., 2011. Depression and risk of developing dementia. *Nat. Rev. Neurol.* 7, 323–331. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.60>.
- Cartford, M.C., Gould, T., Bickford, P.C., 2004. A central role for norepinephrine in the modulation of cerebellar learning tasks. *Behav. Cognit. Neurosci.* 3, 131–138. <https://doi.org/10.1177/1534582304270783>.
- Clewett, D.V., Lee, T.H., Greening, S., Ponzio, A., Margalit, E., Mather, M., 2016. Neuromelanin marks the spot: identifying a locus coeruleus biomarker of cognitive reserve in healthy aging. *Neurobiol. Aging* 37, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.09.019>.
- Devilbiss, D.M., Waterhouse, B.D., 2004. The effects of tonic locus coeruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J. Neurosci.* 24, 10773–10785. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1573-04.2004>.
- Donix, M., Burggren, A.C., Suthana, N.A., Siddarth, P., Ekstrom, A.D., Krupa, A.K., Jones, M., Martin-Harris, L., Ercoli, L.M., Miller, K.J., Small, G.W., Bookheimer, S.Y., 2010. Family history of Alzheimer's disease and hippocampal structure in healthy people. *Am. J. Psychiatr.* 167, 1399–1406. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09111575>.
- Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Dekosky, S.T., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., Delacourte, A., Galasko, D., Gauthier, S., Jicha, G., Meguro, K., O'Brien, J., Pasquier, F., Robert, P., Rossor, M., Salloway, S., Stern, Y., Visser, P.J., Scheltens, P., 2007. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 6, 734–746. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70178-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70178-3).
- Falcon, C., Tucholka, A., Monté-Rubio, G.C., Cacciaglia, R., Operto, G., Rami, L., Gispert, J.D., Molinuevo, J.L., 2018. Longitudinal structural cerebral changes related to core CSF biomarkers in preclinical Alzheimer's disease: a study of two independent datasets. *NeuroImage Clin* 19, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.04.016>.
- Fratiglioni, L., Ahlbom, A., Viitanen, M., Winblad, B., 1993. Risk factors for late-onset Alzheimer's disease: a population-based, case-control study. *Ann. Neurol.* 33, 258–266. <https://doi.org/10.1002/ana.410330306>.
- Grudzien, A., Shaw, P., Weintraub, S., Bigio, E., Mash, D.C., Mesulam, M.M., 2007. Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 28, 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.02.007>.
- Gulisano, W., Maugeri, D., Baltrons, M.A., Fà, M., Amato, A., Palmeri, A., D'Adamo, L., Grassi, C., Devanand, D.P., Honig, L.S., Puzzo, D., Arancio, O., 2018. Role of amyloid- $\beta$  and tau proteins in Alzheimer's disease: confuting the amyloid cascade. *J. Alzheim. Dis.* 64, S611–S631. <https://doi.org/10.3233/JAD-179935>.
- Hämmerer, D., Callaghan, M.F., Hopkins, A., Kosciessa, J., Betts, M., Cardenas-Blanco, A., Kanowski, M., Weiskopf, N., Dayan, P., Dolan, R.J., Düzel, E., 2018. Locus coeruleus integrity in old age is selectively related to memories linked with salient negative events. *Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am.* 115, 2228–2233. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712268115>.
- Heneka, M.T., Carson, M.J., El Khoury, J., Landreth, G.E., Brosseron, F., Feinstein, D.L., Jacobs, A.H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R.M., Herrup, K., Frautschy, S.A., Finsen, B., Brown, G.C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Petzold, G.C., Town, T., Morgan, D., Shinohara, M.L., Perry, V.H., Holmes, C., Bazan, N.G., Brooks, D.J., Hunot, S., Joseph, B., Deigendesch, N., Garaschuk, O., Boddeke, E., Dinarello, C.A., Breitner, J.C., Cole, G.M., Golenbock, D.T., Kummer, M.P., 2015. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 14, 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5).
- Heneka, M.T., Ramanathan, M., Jacobs, A.H., Dumitrescu-Ozimek, L., Bilkei-Gorzo, A., Debeir, T., Sastre, M., Galldik, N., Zimmer, A., Hoehne, M., Heiss, W.-D., Klockgether, T., Staufenbiel, M., 2006. Locus coeruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J. Neurosci.* 26, 1343–1354. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4236-05.2006>.
- Honea, R.A., Swerdlow, R.H., Vidoni, E.D., Goodwin, J., Burns, J.M., 2010. Reduced gray matter volume in normal adults with a maternal family history of Alzheimer disease. *Neurology* 74, 113–120. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c918cb>.
- Iba, M., McBride, J.D., Guo, J.L., Zhang, B., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.-Y., 2015. Tau pathology spread in PS19 tau transgenic mice following locus coeruleus (LC) injections of synthetic tau fibrils is determined by the LCs afferent and efferent connections. *Acta Neuropathol.* 130, 349–362. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1458-4>.
- Jacobs, H.L.L., Wiese, S., van de Ven, V., Gronenschild, E.H.B.M., Verhey, F.R.J., Matthews, P.M., 2015. Relevance of parahippocampal-locus coeruleus connectivity to memory in early dementia. *Neurobiol. Aging* 36, 618–626. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.041>.
- Keren, N.I., Lozar, C.T., Harris, K.C., Morgan, P.S., Eckert, M.A., 2009. In-vivo mapping of the human locus coeruleus. *Neuroimage* 47, 1261–1267. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.06.012>.
- Kline, R.L., Zhang, S., Farr, O.M., Hu, S., Zaborsky, L., Samanez-Larkin, G.R., Li, C.-S.R., 2016. The effects of methylphenidate on resting-state functional connectivity of the basal nucleus of Meynert, locus coeruleus, and ventral tegmental area in healthy adults. *Front. Hum. Neurosci.* 10, 149. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00149>.
- Kunkle, B.W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J.C., Damotte, V., Naj, A.C., Boland, A., Vronskaya, M., van der Lee, S.J., Amlie-Wolf, A., Bellenguez, C., Frizatti, A., Chouraki, V., Martin, E.R., Sleegers, K., Badarinarayan, N., Jakobsdottir, J., Hamilton-Nelson, K.L., Moreno-Grau, S., Olsato, R., Raybould, R., Chen, Y., Kuzma, A.B., Hiltunen, M., Morgan, T., Ahmad, S., Vardarajan, B.N., Epelbaum, J., Hoffmann, P., Boada, M., Beecham, G.W., Garnier, J.-G., Harold, D., Fitzpatrick, A.L., Valladares, O., Moutet, M.-L., Gerrish, A., Smith, A.V., Qu, L., Bacq, D., Denning, N., Jian, X., Zhao, Y., Del Zompo, M., Fox, N.C., Choi, S.-H., Mateo, I., Hughes, J.T., Adams, H.H., Malamon, J., Sanchez-Garcia, F., Patel, Y., Brody, J.A., Dombroski, B.A., Naranjo, M.C.D., Daniilidou, M., Eiriksdottir, G., Mukherjee, S., Wallon, D., Uphill, J., Aspelund, T., Cantwell, L.B., Garzía, F., Galimberti, D., Hofer, E., Butkiewicz, M., Fin, B., Scarpini, E., Sarnowski, C., Bush, W.S., Meslage, S., Kornhuber, J., White, C.C., Song, Y., Barber, R.C., Engelborghs, S., Sordon, S., Vojinovic, D., Adams, P.M., Vandenbergh, R., Mayhaus, M., Cupples, L.A., Albert, M.S., De Deyn, P.P., Gu, W., Himali, J.J., Beekly, D., Squassina, A., Hartmann, A.M., Orellana, A., Blacker, D., Rodriguez-Rodriguez, E., Lovestone, S., Garcia, M.E., Doody, R.S., Munoz-Fernandez, C., Sussars, R., Lin, H., Fairchild, T.J., Benito, Y.A., Holmes, C., Karamujčić-Čomić, H., Froesch, M.P., Thonberg, H., Maier, W., Roschupkin, G., Ghetti, B., Giedraitis, V., Kawalia, A., Li, S., Huebinger, R.M., Kilander, L., Moebus, S., Hernández, I., Kamboh, M.I., Brundin, R., Turton, J., Yang, Q., Katz, M.J., Concari, L., Lord, J., Beiser, A.S., Keene, C.D., Helisalmi, S., Kloszewska, I., Kukull, W.A., Koivisto, A.M., Lynch, A., Tarraga, L., Larson, E.B., Haapasalo, A., Lawlor, B., Mosley, T.H., Lipton, R.B., Solfrizzi, V., Gill, M., Longstreth, W.T., Montine, T.J., Frisardi, V., Diez-Fairen, M., Rivadeneira, F., Petersen, R.C., Deramecourt, V., Alvarez, I., Salani, F., Ciaramella, A., Boerwinkle, E., Reiman, E.M., Fievet, N., Rotter, J.I., Reisch, J.S., Hanon, O., Cupidi, C., Andre Uitterlinden, A.G., Royall, D.R., Dufouil, C., Maletta, R.G., de Rojas, I., Sano, M., Brice, A., Cecchetti, R., George-Hyslop, P.S., Ritchie, K., Tsolaki, M., Tsuang, D.W., Dubois, B., Craig, D., Wu, C.-K., Soininen, H., Avramidou, D., Albin, R.L., Fratiglioni, L., Germanou, A., Apostolova, L.G., Keller, L., Koutouramani, M., Arnold, S.E., Panza, F., Gkatzima, O., Athanas, S., Hannequin, D., Whitehead, P., Atwood, C.S., Caffarra, P., Hampel, H., Quintela, I., Carracedo, Á., Lianfeldt, L., Rubinstztein, D.C., Barnes, L.L., Pasquier, F., Frölich, L., Barral, S., McGuinness, B., Beach, T.G., Johnston, J.A., Becker, J.T., Passmore, P., Bigio, E.H., Schott, J.M., Bird, T.D., Warren, J.D., Boeve, B.F., Lupton, M.K., Bowen, J.D., Proitsis, P., Boxer, A., Powell, J.F., Burke, J.R., Kauwe, J.S.K., Burns, J.M., Mancuso, M., Buxbaum, J.D., Bonuccelli, U., Cairns, N.J., McQuillin, A., Cao, C., Livingston, G., Carlson, C.S., Bass, N.J., Carlsson, C.M., Hardy, J., Carney, R.M., Bras, J., Carrasquillo, M.M., Guerreiro, R., Allen, M., Chui, H.C., Fisher, E., Masullo, C., Crocco, E.A., DeCarli, C., Bisceglia, G., Dick, M., Ma, L., Duara, R., Graff-Radford, N.R., Evans, D.A., Hodges, A., Faber, K.M., Scherer, M., Fallon, K.B., Riemenschneider, M., Fardo, D.W., Heun, R., Farlow, M.R., Kölsch, H., Ferris, S., Leber, M., Foroud, T.M., Heuser, I., Galasko, D.R.,

- Giegling, I., Gearing, M., Hüll, M., Geschwind, D.H., Gilbert, J.R., Morris, J., Green, R.C., Mayo, K., Growdon, J.H., Feulner, T., Hamilton, R.L., Harrell, L.E., Driichel, D., Honig, L.S., Cushion, T.D., Huentelman, M.J., Hollingworth, P., Hulette, C.M., Hymen, B.T., Marshall, R., Jarvik, G.P., Meggy, A., Abner, E., Menzies, G.E., Jin, L.-W., Leonenko, G., Real, L.M., Jun, G.R., Baldwin, C.T., Grozeva, D., Karydas, A., Russo, G., Kaye, J.A., Kim, R., Jessen, F., Kowall, N.W., Vellas, B., Kramer, J.H., Vardy, E., LaFerla, F.M., Jöckel, K.-H., Lah, J.J., Dichgans, M., Leverenz, J.B., Mann, D., Levey, A.I., Pickering-Brown, S., Lieberman, A.P., Klopp, N., Lunetta, K.L., Wichmann, H.-E., Lyketsos, C.G., Morgan, K., Marson, D.C., Brown, K., Martiniuk, F., Medway, C., Mash, D.C., Nöthen, M.M., Masliah, E., Hooper, N.M., McCormick, W.C., Daniele, A., McCurry, S.M., Bayer, A., McDavid, A.N., Gallacher, J., McKee, A.C., van den Bussche, H., Mesulam, M., Brayne, C., Miller, B.L., Riedel-Heller, S., Miller, C.A., Miller, J.W., Al-Chalabi, A., Morris, J.C., Shaw, C.E., Myers, A.J., Wiltfang, J., O'Bryant, S., Olichney, J.M., Alvarez, V., Parisi, J.E., Singleton, A.B., Paulson, H.L., Collinge, J., Perry, W.R., Mead, S., Peskind, E., Cribbs, D.H., Rossor, M., Pierce, A., Ryan, N.S., Poon, W.W., Nacmias, B., Potter, H., Sorbi, S., Quinn, J.F., Sacchinelli, E., Raj, A., Spalletta, G., Raskind, M., Caltagirone, C., Bossù, P., Orfei, M.D., Reisberg, B., Clarke, R., Reitz, C., Smith, A.D., Ringman, J.M., Warden, D., Roberson, E.D., Wilcock, G., Rogava, E., Bruni, A.C., Rosen, H.J., Gallo, M., Rosenberg, R.N., Ben-Shlomo, Y., Sager, M.A., Mecocci, P., Saykin, A.J., Pastor, P., Cuccaro, M.L., Vance, J.M., Schneider, J.A., Schneider, L.S., Slifer, S., Seeley, W.W., Smith, A.G., Sonnen, J.A., Spina, S., Stern, R.A., Swerdlow, R.H., Tang, M., Tanzi, R.E., Trojanowski, J.Q., Troncoso, J.C., Van Deerlin, V.M., Van Eldik, L.J., Vinters, H.V., Vonsattel, J.P., Weintraub, S., Welsh-Bohmer, K.A., Wilhelmsen, K.C., Williamson, J., Wingo, T.S., Woltjer, R.L., Wright, C.B., Yu, C.-E., Yu, L., Saba, Y., Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC), European Alzheimer's Disease Initiative (EADI), Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium (CHARGE), Genetic and Environmental Risk in AD/Defining Genetic, P. E.R. for A.D.C. (GERAD/PERADES), Pilotto, A., Bullido, M.J., Peters, O., Crane, P.K., Bennett, D., Bosco, P., Coto, E., Boccardi, V., De Jager, P.L., Lleo, A., Warner, N., Lopez, O.L., Ingelsson, M., Deloukas, P., Cruchaga, C., Graff, C., Gwilliam, R., Fornage, M., Goate, A.M., Sanchez-Juan, P., Kehoe, P.G., Amin, N., Ertekin-Taner, N., Berr, C., DeBette, S., Love, S., Launer, L.J., Younkin, S.G., Dartigues, J.-F., Corcoran, C., Ikram, M.A., Dickson, D.W., Nicolas, G., Campion, D., Tschanz, J., Schmidt, H., Hakonarson, H., Clarimon, J., Munger, R., Schmidt, R., Farrer, L.A., Van Broeckhoven, C., C O'Donovan, M., DeStefano, A.L., Jones, L., Haines, J.L., Deleuze, J.-F., Owen, M.J., Gudnason, V., Mayeux, R., Escott-Price, V., Psaty, B.M., Ramirez, A., Wang, L.-S., Ruiz, A., van Duijn, C.M., Holmans, P.A., Seshadri, S., Williams, J., Amouyel, P., Schellenberg, G.D., Lambert, J.-C., Pericak-Vance, M.A., 2019. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A $\beta$ , tau, immunity and lipid processing. *Nat. Genet.* 51, 414–430. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>.
- Marien, M.R., Colpaert, F.C., Rosenquist, A.C., 2004. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. *Brain Res. Rev.* 45, 38–78. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.02.002>.
- Martuzzi, R., Ramani, R., Qiu, M., Shen, X., Papademetris, X., Constable, R.T., 2011. A whole-brain voxel based measure of intrinsic connectivity contrast reveals local changes in tissue connectivity with anesthetic without a priori assumptions on thresholds or regions of interest. *Neuroimage* 58, 1044–1050. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.075>.
- Pamphlett, R., Kum Jew, S., 2015. Different populations of human locus coeruleus neurons contain heavy metals or hyperphosphorylated tau: implications for amyloid- $\beta$  and tau pathology in Alzheimer's disease. *J. Alzheim. Dis.* 45, 437–447. <https://doi.org/10.3233/JAD-142445>.
- Parkes, L., Fulcher, B., Yücel, M., Fornito, A., 2018. An evaluation of the efficacy, reliability, and sensitivity of motion correction strategies for resting-state functional MRI. *Neuroimage* 171, 415–436. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.12.073>.
- Reitz, C., Brayne, C., Mayeux, R., 2011. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 7, 137–152. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2011.2>.
- Rüb, U., Stratmann, K., Heinsen, H., Del Turco, D., Seidel, K., den Dunnen, W., Korf, H.-W., 2016. The brainstem tau cytoskeletal pathology of Alzheimer's disease: a brief historical overview and description of its anatomical distribution pattern, evolutionary features, pathogenetic and clinical relevance. *Curr. Alzheimer Res.* 13, 1178–1197. <https://doi.org/10.2174/1567205013666160606100509>.
- Sepulveda-Falla, D., Matschke, J., Bernreuther, C., Hagel, C., Puig, B., Villegas, A., Garcia, G., Zea, J., Gomez-Mancilla, B., Ferrer, I., Lopera, F., Glatzel, M., 2011. Deposition of hyperphosphorylated tau in cerebellum of PS1 E280A Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 21, 452–463. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2010.00469.x>.
- Sjöbeck, M., Englund, E., 2001. Alzheimer's disease and the cerebellum: a morphologic study on neuronal and glial changes. *Dement. Geriatr. Cognit. Disord.* 12, 211–218. <https://doi.org/10.1159/000051260>.
- Stoodley, C.J., Valera, E.M., Schmahmann, J.D., 2012. Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: an fMRI study. *Neuroimage* 59, 1560–1570. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.08.065>.
- Tabatabaei-Jafari, H., Walsh, E., Shaw, M.E., Cherbuin, N., 2017. The cerebellum shrinks faster than normal ageing in Alzheimer's disease but not in mild cognitive impairment. *Hum. Brain Mapp.* 38, 3141–3150. <https://doi.org/10.1002/hbm.23580>.
- Thal, D.R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791–1800. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.12.1791>.
- Theofilas, P., Dunlop, S., Heinsen, H., Grinberg, L.T., 2015. Turning on the light within: subcortical nuclei of the isodentritic core and their role in Alzheimer's disease pathogenesis. *J. Alzheim. Dis.* 46, 17–34. <https://doi.org/10.3233/JAD-142682>.
- Theofilas, P., Ehrenberg, A.J., Dunlop, S., Di Lorenzo Alho, A.T., Nguy, A., Leite, R.E.P., Rodriguez, R.D., Mejia, M.B., Suemoto, C.K., Ferretti-Rebustini, R.E.D.L., Polichiso, L., Nascimento, C.F., Seeley, W.W., Nitri, R., Pasqualucci, C.A., Jacob Filho, W., Rueb, U., Neuhaus, J., Heinsen, H., Grinberg, L.T., 2017. Locus coeruleus volume and cell population changes during Alzheimer's disease progression: a stereological study in human postmortem brains with potential implication for early-stage biomarker discovery. *Alzheimer's Dementia* 13, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.06.2362>.
- Toniolo, S., Serra, L., Olivito, G., Marra, C., Bozzali, M., Cercignani, M., 2018. Patterns of cerebellar gray matter atrophy across Alzheimer's disease progression. *Front. Cell. Neurosci.* 12, 430. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00430>.
- Wegiel, J., Wisniewski, H.M., Dziejwiakowski, J., Badmajew, E., Tarnawski, M., Reisberg, B., Mlodzik, B., De Leon, M.J., Miller, D.C., 1999. Cerebellar atrophy in Alzheimer's disease - clinicopathological correlations. *Brain Res.* 818, 41–50. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)01279-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)01279-7).
- Weinshenker, D., 2008. Functional consequences of locus coeruleus degeneration in Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.* 5, 342–345. <https://doi.org/10.2174/156720508784533286>.
- Zarow, C., Lyness, S.A., Mortimer, J.A., Chui, H.C., 2003. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch. Neurol.* 60, 337–341. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.3.337>.
- Zhang, S., Hu, S., Chao, H.H., Li, C.S.R., 2016. Resting-state functional connectivity of the locus coeruleus in humans: in comparison with the ventral tegmental area/substantia nigra pars compacta and the effects of age. *Cerebr. Cortex* 26, 3413–3427. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv172>.

## Supplementary Material

### **Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease**

Inés Del Cerro, M.Sc., Mirta F. Villarreal, Ph.D., Carolina Abulafia, B.A., Bárbara Duarte-Abritta, B.Sc., Stella M. Sánchez, B.Sc., Mariana N. Castro, M.D., Ph.D., Hernán Bocaccio, B.Sc., Isidre Ferrer, M.D., Ph.D., José Manuel Menchón, M.D., Ph.D., Gustavo Sevlever, M.D., Ph.D., Charles B. Nemeroff, M.D., Ph.D., Carles Soriano-Mas\*, Ph.D., Salvador M. Guinjoan\*\*, M.D., Ph.D.

#### **Neurocognitive assessment**

The set of neuropsychological tests included: (a) the Mini-Mental State Examination (MMSE), used as a screening test of cognitive function; (b) the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT), designed to measure verbal learning and memory; (c) the Trail Making Test (TMT), with a first (A) part to assess simple visual attention skills and psychomotor speed, and a second (B) section to evaluate executive control, cognitive flexibility and set shifting; (d) the Stroop Color and Word Test (SCWT), with three parts: the Word task, where the subject is asked to read a list of color words, the Color task, where the color of the ink of a list of graphic symbols must be evoked, and the Color-Word task, on which the individual is asked to name the color words written in conflicting ink colors; (e) verbal fluency tests, which were used to assess verbal production (an executive function measure). Specifically, we evaluated phonological fluency (participants were asked to evoke as many items as possible starting with "P"), and semantic fluency ("animals"); (f) The Tower of London (TOL), used to assess cognitive planning ability; (g) the Boston Naming Test, a visual confrontation naming test widely used to evaluate language function; and (h) the Digit Span, Similarities and Vocabulary subtests from the WAIS-IV (Wechsler Adult Intelligence Scale, fourth edition). In addition, other screening scales were used to control for other clinical variables of interest, such as the Beck's Depression Inventory (BDI).

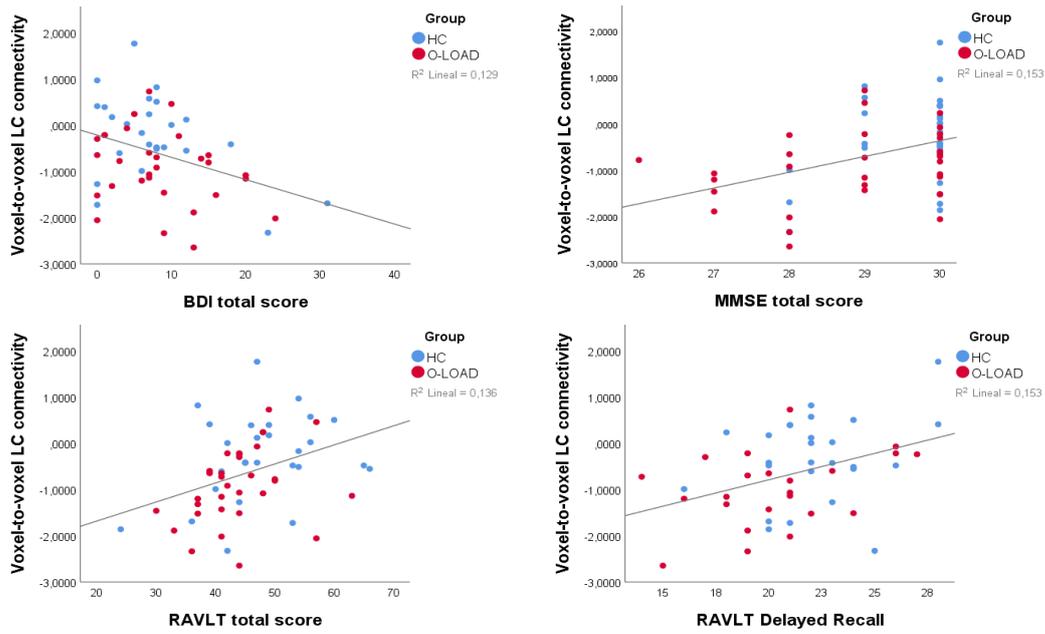
**Table S1.** Whole-sample correlations between left LC global connectivity degree and neuropsychological and clinical variables.

Neuropsychological or clinical variable	Pearson's r	<i>p</i> Value <sup>a</sup>
BDI	-0.359	0.035*
MMSE	0.391	0.033*
RAVLT		
RAVLT total learning	0.368	0.033*
Recognition	0.120	0.480
Delayed Recall	0.391	0.033*
TMT-A	-0.084	0.556
TMT-B	-0.184	0.373
SCWT		
Word task	0.287	0.100
Color task	0.143	0.466
Color-Word task	0.123	0.480
Semantic fluency	0.243	0.165
Phonological fluency	0.112	0.480
TOL		
Total movements	-0.174	0.410
Execution time	-0.318	0.067
Total time	-0.312	0.067
Boston Naming Test	0.111	0.480
WAIS-IV		
Digit Span Forward	-0.014	0.919
Digit Span Backward	0.092	0.543
Similarities	0.146	0.466
Vocabulary	0.145	0.466

Abbreviations: BDI= Beck's Depression Inventory; MMSE= Mini-mental State Examination; RAVLT= Rey Auditory Verbal Learning Test; SCWT= Stroop Color and Word Test; TMT= Trail Making Test; TOL= Tower of London; WAIS-IV= Weschler Adult Intelligence Scale, fourth edition.

<sup>a</sup> All *p*-values were FDR-corrected for multiple comparisons.

\* *p*<0.05.



**Figure S1.** Scatter plots depicting the correlations between left LC global connectivity degree and BDI (Beck's Depression Inventory) total score (top left), MMSE (Mini-Mental State Examination) total score (top right), and RAVLT (Rey Auditory-Verbal Learning Test) total and Delayed Recall scores (bottom left and right, respectively).



---

## 5.2. Estudio 2

### Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task

Inés del Cerro, Ignacio Martínez-Zalacaín, Andrés Guinea-Izquierdo, Jordi Gascón-Bayarri, Vanesa Viñas-Diez, Mikel Urretavizcaya, Pablo Naval-Baudin, Carlos Aguilera, Ramón Reñé-Ramirez, Isidre Ferrer, José M. Menchón, Virginia Soria, Carles Soriano-Mas

Neuroimage: Clinical, 2020, 28, 102482

*Factor de Impacto* (JCR 2019): 4.350

---

#### **Resumen de los resultados:**

Los resultados del Estudio 2 apoyaron parcialmente las hipótesis planteadas, puesto que los pacientes con TDM en la adultez tardía mostraron alteraciones significativas en la conectividad global del LC al procesar estímulos diana en una tarea atencional de *oddball* visual. Sin embargo, no encontramos cambios significativos en el caso de los DCL-a. Tras caracterizar este patrón de conectividad alterado en los pacientes del grupo TDM, descubrimos que existía una disminución de la conectividad entre el LC y diferentes regiones corticales y subcorticales, que, en este grupo de pacientes, se asociaron con medidas de severidad de la depresión. Los resultados descritos en detalle son los siguientes:

1. Los sujetos con TDM y DCL-a mostraron puntuaciones significativamente alteradas en la evaluación clínica y neuropsicológica en comparación con los CS:
  - 1.1. Los sujetos del grupo TDM presentaron mayores puntuaciones en GDS y menores puntuaciones en MMSE en comparación con CS.

- 1.2. Los sujetos del grupo TDM puntuaron significativamente más alto en la escala HDRS en comparación con CS y DCL-a.
- 1.3. Los sujetos del grupo DCL-a mostraron puntuaciones más bajas frente a los CS en las escalas MMSE, FAST y en medidas de función ejecutiva (SDMT y SKT).
- 1.4. Los sujetos del grupo DCL-a exhibieron puntuaciones más bajas en la prueba de memoria verbal que los otros dos grupos.
- 1.5. En la tarea de *oddball* visual, ambos grupos clínicos, TDM y DCL-a, presentaron más errores de omisión que los CS.
- 1.6. Los sujetos del grupo DCL-a cometieron más errores de comisión en la tarea *oddball* visual en comparación con los otros dos grupos del estudio.
2. En comparación con DCL-a y CS, en los sujetos con TDM se observó una conectividad global disminuida en el LC derecho cuando se presentaban los estímulos diana en la tarea *oddball* visual frente a los estímulos estándar.
3. Al procesar a los estímulos *oddball* (versus estándar), los sujetos del grupo TDM mostraron una conectividad disminuida entre el LC derecho y diferentes regiones encefálicas:
  - 3.1. En comparación con los CS, los TDM mostraron una disminución en la conectividad del LC con la corteza cingulada anterior (CCA) izquierda, el giro fusiforme (GF) derecho, el lóbulo VIII del vermis cerebelar, y los lóbulos III, VIII y IX del hemisferio derecho del cerebelo.
    - 3.1.1. Los TDM con un episodio activo de depresión (con mayor severidad de la depresión en ese momento) mostraron valores de conectividad entre el LC y la CCA más bajos que los TDM con menor severidad de síntomas.
  - 3.2. Al compararlos con los DCL-a, las alteraciones de CF del LC en los sujetos con TDM se redujeron a una disminución de conectividad con el lóbulo III bilateral del cerebelo.

4. En el grupo de TDM, la conectividad entre el LC y la CCA se correlacionó negativamente tanto con medidas de severidad como con medidas de carga de enfermedad (puntuaciones en GDS y número de recurrencias depresivas, respectivamente).





## Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task

Inés del Cerro<sup>a,b,c</sup>, Ignacio Martínez-Zalacaín<sup>a,b</sup>, Andrés Guinea-Izquierdo<sup>a,b</sup>,  
Jordi Gascón-Bayarri<sup>d</sup>, Vanesa Viñas-Diez<sup>d</sup>, Mikel Urretavizcaya<sup>a,b,c</sup>, Pablo Naval-Baudin<sup>e</sup>,  
Carlos Aguilera<sup>e</sup>, Ramón Reñé-Ramírez<sup>d</sup>, Isidre Ferrer<sup>f,g,h</sup>, José M. Menchón<sup>a,b,c</sup>,  
Virginia Soria<sup>a,b,c,\*</sup>, Carles Soriano-Mas<sup>a,c,i,\*</sup>

<sup>a</sup> Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department of Clinical Sciences, Bellvitge Campus, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>c</sup> Network Center for Biomedical Research on Mental Health (CIBERSAM), Carlos III Health Institute (ISCIII), Barcelona, Spain

<sup>d</sup> Dementia Diagnostic and Treatment Unit, Department of Neurology, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain

<sup>e</sup> Imaging Diagnostic Institute (IDI), Neuroradiology Unit, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain

<sup>f</sup> Department of Pathology and Experimental Therapeutics, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, Barcelona, Spain

<sup>g</sup> Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Pathologic Anatomy, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain

<sup>h</sup> Network Center for Biomedical Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), Barcelona, Spain

<sup>i</sup> Department of Psychobiology and Methodology in Health Sciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Late-life major depressive disorder  
Mild cognitive impairment  
Locus coeruleus  
Anterior cingulate cortex  
Functional magnetic resonance imaging  
Visual oddball task

### ABSTRACT

The Locus Coeruleus (LC) is the major source of noradrenergic neurotransmission. Structural alterations in the LC have been observed in neurodegenerative disorders and at-risk individuals, although functional connectivity studies between the LC and other brain areas have not been yet performed in these populations. Patients with late-life major depressive disorder (MDD) are indeed at increased risk for neurodegenerative disorders, and here we investigated LC connectivity in late-life MDD in comparison to individuals with amnesic type mild cognitive impairment (aMCI) and healthy controls (HCs). We assessed 20 patients with late-life MDD, 16 patients with aMCI, and 26 HCs, who underwent a functional magnetic resonance scan while performing a visual oddball task. We assessed task-related modulations of LC connectivity (i.e., Psychophysiological Interactions, PPI) with other brain areas. A T1-weighted fast spin-echo sequence for LC localization was also obtained. Patients with late-life MDD showed lower global connectivity during target detection in a cluster encompassing the right caudal LC. Specifically, we observed lower LC connectivity with the left anterior cingulate cortex (ACC), the right fusiform gyrus, and different cerebellar clusters. Moreover, alterations in LC-ACC connectivity correlated negatively with depression severity (i.e., Geriatric Depression Scale and number of recurrences). Reduced connectivity of the LC during oddball performance seems to specifically characterize patients with late-life MDD, but not other populations of aged individuals with cognitive alterations. Such alteration is associated with different measures of disease severity, such as the current presence of symptoms and the burden of disease (number of recurrences).

### 1. Introduction

The locus coeruleus (LC), the major noradrenergic (NA) source in the central nervous system, has been suggested to be one of the initial sites of appearance of pathologically altered tau aggregates in preclinical stages of Alzheimer's disease (AD) (Braak et al., 2011; Zarow et al.,

2003; Braak and Del Tredici, 2015). Neuropathological studies have revealed that pretangle tau lesions may be observed in the LC of healthy subjects before 30 years of age (Braak and Del Tredici, 2011), and tau alterations in the LC of asymptomatic individuals have been related to alterations in different metabolic pathways of LC neurons and increased pro-inflammatory gene expression and microglia response, which are

\* Corresponding authors at: Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Feixa Llarga s/n, 08907, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain.

E-mail addresses: [vsoria@bellvitgehospital.cat](mailto:vsoria@bellvitgehospital.cat) (V. Soria), [csoriano@idibell.cat](mailto:csoriano@idibell.cat) (C. Soriano-Mas).

<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102482>

Received 24 April 2020; Received in revised form 25 September 2020; Accepted 19 October 2020

Available online 27 October 2020

2213-1582/© 2020 The Author(s).

Published by Elsevier Inc.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

accompanied by compensatory increases in  $\alpha$ 2A adrenergic receptor protein levels in regions receiving noradrenergic input from the LC, such as the amygdala or the hippocampus (Andrés-Benito et al., 2017).

Individuals with mild cognitive impairment (MCI), with an estimated AD-conversion rate around 10–15% per year (Petersen, 2004), accumulate tau pathological changes in the LC to a larger extent than cognitively preserved individuals (Grudzien et al., 2007). Such accumulation, however, is smaller than in AD, suggesting that LC degeneration increases throughout the MCI-AD continuum (Grudzien et al., 2007). Moreover, individuals with amnesic MCI (aMCI), with AD conversion odds greater than the non-amnesic subtype (Busse et al., 2006), also present alterations in pupillary response (Granhölm et al., 2017), which has been shown to be associated to altered task-induced phasic activity of LC neurons (Elman et al., 2017), although pupil dilation may also depend on other neurotransmitter systems, such as serotonin (Weinberg-Wolf et al., 2018).

Subjects with late-life major depressive disorder (MDD) have a twofold increased risk of progression to AD (Byers and Yaffe, 2011; Green et al., 2003), and also show alterations in the LC, such as a decreased neuronal count (Baumann et al., 1999). More importantly, MDD patients present a decreased neuron density in LC projection areas (e.g., hippocampus or prefrontal cortex) (Tsopelas et al., 2011), which has led to suggest that decreased NA input may be related to neural degeneration in different brain regions (Gannon and Wang, 2019). Nevertheless, to our knowledge, no previous studies have evaluated potential abnormalities in the connectivity between the LC and the multiple areas receiving NA input in late-life MDD. This could be achieved by non-invasive means with functional magnetic resonance imaging (fMRI) estimations of functional connectivity between the LC and the rest of the brain.

In physiological conditions, phasic discharge in LC neurons occurs in front of salient events (Aston-Jones and Cohen, 2005), and NA activity has been linked to fast orienting and flexible behavior by optimizing signal-to-noise ratio in regions receiving LC input (Devillebiss, 2004). In experimental settings, such phasic activity of the LC has been traditionally assessed by means of oddball paradigms (Rajkowski et al., 1994) evaluating the capacity to rapidly detect unpredictable, infrequent and salient stimuli (i.e., oddball stimuli) (Aston-Jones et al., 1994). Despite the limited temporal resolution of BOLD fMRI, putative alterations in functional connectivity between the LC and the rest of brain areas should therefore be better captured during event-related tasks than during resting-state or blocks of continuous activation.

Here, we aim to evaluate whole-brain functional connectivity of the LC during a visual oddball paradigm in patients with late-life MDD, who were compared to patients with aMCI and healthy controls (HCs). We also aimed at correlating neuroimaging measurements with clinical and neuropsychological data. Importantly, although the oddball task has been strongly associated with LC and NA activity, to evaluate the specificity of our potential findings, we first performed a global connectivity degree analysis (i.e., voxel-to-voxel, or V2V) to identify voxels showing functional connectivity alterations during oddball detection within a pons area encompassing different nuclei that could be also involved in oddball detection. Such an approach also allowed for detecting significant differences in distinct LC subregions. Moreover, to ascertain that our findings were indeed located in the LC, our functional findings were contrasted against a specific structural sequence allowing visualization of the LC. Finally, we performed a seed-based analysis with the results from the V2V analysis to characterize LC connectivity. We hypothesized that individuals with late-life MDD and aMCI will show impairment in the oddball task in combination with a disrupted connectivity from the LC to other brain areas during oddball detection, and this will likely relate to measures of task performance and disorder severity. We also anticipate that such alterations will discriminate between the clinical groups.

## 2. Methods

### 2.1. Participants

The final sample of the study included 20 patients with late-life MDD (13 women), 16 aMCI (10 women) and 26 HCs (16 women) (see Table S1 for a description of the number of participants initially recruited and the reasons for their exclusion). Late-life MDD patients were consecutively recruited from the Department of Psychiatry at Bellvitge University Hospital (Barcelona, Spain), and diagnosed following DSM-IV-TR criteria for MDD. In all cases, major depression was their primary diagnosis, and the first depressive episode appeared after 40 years of age. Individuals with aMCI were consecutively recruited from the Department of Neurology of the same hospital. They were diagnosed following Petersen criteria<sup>6</sup>, with Clinical Dementia Rating (CDR) scores of 0.5 (Hughes et al., 1982), and were characterized as amnesic MCI using the delayed recall test (5 points or less) of the Wechsler Memory Scale III (Wechsler, 1997). Importantly, aMCI subjects did not present MDD comorbidity. It is important to note that our definition of aMCI is based on a syndromal categorical cognitive staging approach, and not in the use of biomarkers (Jack et al., 2018). Healthy controls were recruited from the same geographical area through advertisements and underwent a medical anamnesis to rule out the possibility of current or lifetime psychiatric or neurologic disorder, as well as the use of psychotropic medication.

All participants underwent a comprehensive neuropsychological testing, including the Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975) and different tests covering the domains of attention, verbal learning and memory, executive functioning, language, visual gnosias and motor praxis (Table S2). Since groups differed in premorbid intelligence (i.e., Vocabulary score,  $F_{(2,59)} = 24.99$ ,  $p < 0.0001$ ), this variable was used as confounding covariate in across-group comparisons of neurocognitive variables. The Spanish brief version of the Geriatric Depression Scale (GDS) (Martínez de la Iglesia et al., 2002) and the Hamilton Depression Rating Scale (Hamilton, 1960) were administered to assess depression severity, but not for diagnostic purposes, and the Functional Assessment Staging scale (FAST) (Sclan and Reisberg, 1992) was used as a measure of functionality.

Exclusion criteria included  $< 60$  or  $> 75$  years, current or past history of other psychiatric or neurological disorders, acute and severe depressive symptoms hampering neurocognitive assessment, a Hachinski Ischemia Score  $> 3$ , CDR scores  $> 0.5$ , mental disability, any severe medical condition, current or past substance abuse (excluding nicotine), sensorial impairment preventing undertaking any of the assessments, presence of contraindications to magnetic resonance imaging (MRI), or gross abnormalities in the MRI scan. Written informed consent was obtained from all participants after a complete description of the study, which was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the ethical committee in clinical research of Bellvitge University Hospital.

### 2.2. Visual oddball task

All participants undertook a visual oddball task during the acquisition of an fMRI sequence. They were instructed to lie still without moving, focusing their attention on a centrally presented visual stimuli consisting of a purple cross ( $0.65^\circ$  of the visual angle) and standard and target/oddball stimuli (purple circles with diameters subtending  $3.2^\circ$  and  $1.6^\circ$  of the visual angle, respectively). All stimuli were presented against a dark-grey background matched for luminance. A total of 200 standard stimuli and 50 targets were presented for 100 ms each, with an interstimulus interval pseudorandomly varying between 2.5 and 3.5 s. Target stimuli (20% of the trials) were pseudorandomly distributed throughout the task ensuring a minimum inter-target interval of 10 s. Finally, seven 14 s cross blocks were interspersed throughout the task to minimize fatigue. Task was presented using E-Prime software

(Psychology Software Tools Inc., Pittsburgh, PA) and a 32 LCD Bold Screen for fMRI (Cambridge Research Systems Ltd) placed at the rear of the bore, which was visible through a mirror mounted at the MRI head coil. Subjects indicated the detection of the oddball stimuli with a right-handed index-press using an MRI-compatible three-button fiber optic response box (Lumina 3G Controller, Cedrus Corporation). Task duration was 14 min 42 s.

### 2.3. Image acquisition

Imaging data were acquired using a 3 T Ingenia scan (Philips Healthcare, Best, The Netherlands) equipped with a 32-channel head coil at Imaging Diagnostic Institute (IDI, Duran i Reynals Hospital, Barcelona, Spain). The functional sequence consisted of 435 echo-planar image volumes (excluding the four initial dummy volumes) comprising 40 interleaved slices acquired in the oblique axial direction perpendicular to the floor of the fourth ventricle (repetition time = 2000 ms; echo time = 25 ms; flip angle = 90°; 3 mm isotropic voxels; field of view = 24 cm, 80x80 pixel matrix).

For anatomical reference and imaging preprocessing purposes, we also acquired for each participant a whole-brain T1-weighted anatomical three-dimensional inversion-recovery prepared spoiled gradient echo sequence (233 axial slices; repetition time = 10.46 ms; echo time = 4.79 ms; flip angle = 8°; 0.75 mm isotropic voxels; field of view = 24 cm; pixel matrix = 320 × 318; total duration = 5 min, 04 s).

Moreover, a T1-weighted fast spin-echo sequence was also acquired for LC localization. This sequence lasted 15 min 02 s and consisted of 15 slices covering the brainstem area to the level of the caudal pons with the following parameters: repetition time = 600 ms; echo time = 14 ms; flip angle = 90°; 2.5 mm slice thickness; 0 mm gap; matrix size 404x250; FOV 170x170 mm<sup>2</sup>; acquisition voxel size 0.42x0.68x2.5 mm<sup>3</sup>; reconstructed voxel size 0.39x0.39x2.5 mm<sup>3</sup>). The sections were acquired in the oblique axial direction perpendicular to the floor of the fourth ventricle covering from the posterior commissure to the inferior border of the pons. See supplementary material for details on LC localization, and Figs. S1 and S2. Throughout the acquisition protocol, we used foam pads and made sure that patients' head was comfortably placed within the head coil to avoid excessive movement.

### 2.4. Imaging data preprocessing and denoising

First, functional time series were initially despiked using the Brain-Wavelet toolbox v2.0 (Patel et al., 2014). Next, using MATLAB version 9.3 (R2017b) (The MathWorks Inc, Natick, Massachusetts) and the MATLAB-based CONN-fMRI Functional Connectivity toolbox version 17.f (Whitfield-Gabrieli and Nieto-Castanon, 2012), implemented in SPM12 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK; www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm), functional images were aligned to the first volume of the time series using a six-parameter rigid body spatial transformation and a least-squares minimization in combination with an unwarping algorithm aimed at correcting motion and motion-related distortions. Slice-timing correction was then applied. The ART-based automatic volume outlier detection ([https://www.nitrc.org/projects/artifact\\_detect/](https://www.nitrc.org/projects/artifact_detect/)) was also run for later scrubbing. Likewise, both functional and structural images were subjected to simultaneous grey, white matter and cerebrospinal fluid segmentation, and a bias correction was performed to remove smoothly varying intensity differences across images. Such image segments were subsequently spatially normalized through non-linear transformations to the Montreal Neurological Institute (MNI) stereotactic space, and images were resliced to a 2-mm isotropic resolution. Finally, images were smoothed with an 8-mm full-width at half-maximum (FWHM) isotropic Gaussian kernel.

After preprocessing, data were denoised from residual movement and physiological noise. Denoising steps included a temporal despiking, regressing out confounding factors (i.e., effect of BOLD signal small ramping effects at the beginning of each scan session and the six rigid

body realignment parameters, as well as their first order derivatives), controlling for total grey matter (GM) signal, linear detrending, the ART scrubbing protocol, and band-pass filtering (0.008–0.09 Hz). The ART scrubbing protocol regressed out the effect of outlier volumes which signal intensity deviated >5 standard deviations from whole series mean signal intensity or showed evidence of displacement superior to 0.9 mm in relation to the preceding volume. Finally, physiological noise was removed with the anatomical component-based noise correction method (aCompCor) (Behzadi et al., 2007). Importantly, after implementing these different steps, none of the subjects was removed from the analysis because, according to current guidelines (Satterthwaite et al., 2013; Van Dijk et al., 2010), all individual functional series included at least a 95% of original volumes after scrubbing. Moreover, the number of outlier volumes did not differ across the study groups.

### 2.5. Functional MRI data analysis: task-related connectivity

Changes in LC connectivity over time were also assessed using the CONN toolbox v17.f (Whitfield-Gabrieli and Nieto-Castanon, 2012). Specifically, analyses were divided in two parts: voxel-to-voxel and generalized psychophysiological interactions analysis.

#### 2.5.1. Voxel-to-voxel analysis (V2V)

We performed an Intrinsic Connectivity Contrast (ICC) analysis (Martuzzi et al., 2011), which provides an estimation of the number of significant (positive or negative) V2V connections and therefore allowed characterizing global connectivity strength between each voxel and the rest of the brain during oddball detection in relation to standard stimuli. In first-level (within-subject) analyses, the matrix of V2V bivariate correlation coefficients was computed for each participant using the residual BOLD time series from all the 2-mm isotropic gray matter voxels of a whole-brain mask. The correlations of each voxel with the rest of brain voxels were then averaged and displayed in a brain map format as beta-values representing the strength of the whole-brain correlations for each voxel. Realignment parameters, scan-to-scan changes in global BOLD signal (Z-scores), framewise displacement timeseries (in mm) and outlier scans were included as nuisance parameters in this analysis. Next, in the second level (between-subject) analysis, we used the individual beta-maps from the first level analysis to estimate a one-way ANOVA model and compare the voxel-wise connectivity strengths across the three study groups. In accordance with our hypothesis, however, this second-level analysis was restricted to pons voxels to specifically assess across-group changes in global connectivity strength from these areas to the rest of the brain. For this, we used a pons parcellation from the WFU PickAtlas toolbox (Maldjian et al., 2003) encompassing gray matter voxels from the pontine tegmentum, where the LC and other nuclei are located, and the basilar pontine nuclei in the ventral-caudal pons (see Fig. S3).

#### 2.5.2. Generalized psychophysiological interactions analysis (gPPI)

We performed a gPPI analysis to study the specific LC task-related connectivity and identify the brain regions showing more significant changes in connectivity with the LC between target and standard conditions (contrast oddball > standard stimuli). Specifically, we assessed the influence of the task ('psychological factor') on the strength of time-course correlations between signal from the peak cluster resulting from the above ICC analysis and signal from all other brain voxels ('physiological factor'). The resulting contrast images were used in subsequent one-way ANOVA analyses (second-level) to assess across-group differences in task-induced changes in connectivity between the LC and the rest of the brain.

All analyses were controlled for age and sex. Moreover, to set a multiple comparison corrected significance threshold, a voxel-wise non parametric permutation testing with 5000 permutations (Nichols and Holmes, 2001) using the Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) method (Smith and Nichols, 2009, SPM-TFCE toolbox v138: <http://dbm>.

neuro.uni-jena.de/tfce/) was applied. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ , Family-Wise Error (FWE) corrected across all voxels of interest. Finally, to confirm our findings were indeed involving the LC, results from V2V analyses were overlapped onto the MNI-normalized LC map of our sample (see Supplementary material for details).

### 2.5.3. Correlations between imaging and clinical and neuropsychological variables

To explore for the potential association of imaging with clinical and neuropsychological variables, we extracted the first eigenvariate (the factor accounting for the highest percentage of variance of voxel values within a cluster) of significant clusters in above analyses and conducted a series of correlations using SPSS v.25 (SPSS Inc., Chicago, IL). Partial correlations (controlling for age), were performed between imaging results and measures of oddball performance, severity scores (i.e., GDS and MMSE), and other clinical variables such as age at disorder's onset, number of MDD recurrences, and delayed memory scores, and non-parametric statistics were used in post-hoc analyses involving a limited number of subjects (see Results section below). Transformations were applied when the distribution of variables deviated from normality (i.e., skewness). Given the exploratory nature of these analyses, significance threshold was set at  $p < 0.05$ .

## 3. Results

### 3.1. Sociodemographic, clinical and neuropsychological characteristics

Sociodemographic, clinical and neuropsychological characteristics of all participants are described in Table 1 and Table S3. Overall, we observed significant across-group differences in clinical and different neuropsychological domains and oddball task performance. Scheffé's

**Table 1**  
Sociodemographic and clinical characteristics of the study participants.

	MDD (n = 20)	aMCI (n = 16)	HCS (n = 26)	F	df	p Value
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)			
Age, years	67.05 (4.31)	71.13 (2.83)	67.42 (4.33)	5.606		0.006*
Number of depressive recurrences	3.35 (1.69)					
GDS	5.27 (4.88)	2.79 (2.42)	0.85 (1.14)	10.717	60	0.001 <sup>*,†</sup>
HDRS	10.27 (6.70)	3.93 (3.13)	0.90 (1.33)	23.377	61	0.001 <sup>*,†,‡</sup>
FAST	18.73 (10.07)	25.07 (15.56)	13.70 (10.97)	3.966	61	0.024 <sup>*,§</sup>
MMSE	26.67 (2.23)	25.86 (2.41)	29.15 (1.14)	14.784	60	0.001 <sup>*,‡,§</sup>
Oddball task						
Reaction time	452.61 (86.21)	453.77 (105.36)	429.71 (44.21)	0.504	60	0.607
Commission errors	5.47 (4.55)	17.79 (23.75)	2.60 (1.79)	7.239	58	0.002 <sup>*,‡,§</sup>
Omission errors	6.13 (6.26)	6.00 (5.34)	2.80 (3.43)	3.210	60	0.048*
Vocabulary WAIS-III	28.10 (7.78)	31.44 (8.72)	45.08 (9.18)	24.986	59	0.001 <sup>*,‡,§</sup>

Abbreviations: aMCI = amnesic type mild cognitive impairment individuals; FAST = Functional Assessment Staging; GDS = Geriatric Depression Scale; HCs = healthy controls; HDRS = Hamilton Depression Rating Scale; MDD = late-life major depression disorder; MMSE = Mini-mental State Examination; SD = standard deviation.

Post-hoc tests of pair-wise differences.

\*  $p < 0.05$  after FDR correction.

† MDD – HCs.

‡ MDD – aMCI.

§ aMCI – HCs.

post hoc tests showed that, overall, MDD and aMCI groups performed worse than HCs. Specifically, MDD presented higher GDS scores and lower MMSE compared to HCs, and higher HDRS scores in comparison to the other two groups. aMCI individuals showed lower scores in the MMSE, the FAST and executive functioning. Memory impairments were present in aMCI in comparison to both MDD and HCs. As for the oddball task, both clinical groups made more omission errors than HCs, and aMCI subjects made more commission errors than MDD and HCs groups.

### 3.2. Functional connectivity results

#### 3.2.1. Global connectivity

In comparison to aMCI and HC groups, MDD patients showed lower global connectivity strength during oddball trials in relation to standard trials from a cluster located in the right caudal LC (peak voxel:  $x = 6$ ,  $y = -38$ ,  $z = -36$ ; TFCE = 54.11;  $kE = 10$ ;  $pFWE = 0.035$ ) to other gray matter voxels throughout the brain (Fig. 1). To confirm the location of this finding, we overlapped the functional cluster onto the LC distribution map obtained from our sample, what confirmed that the cluster was located at the most caudal portion of the LC (Fig. 1A). Importantly, to further confirm the specificity of our findings and the effects of signal from surrounding structures, we estimated across-group differences from 5 additional seeds in the pontine tegmentum and 2 additional seeds in the fourth ventricle. All analyses reported null findings (see Figs. S4 and S5). When exploring results at a more lenient threshold ( $p < 0.01$ , uncorrected), a similar cluster appeared in the left hemisphere, with the peak coordinate at  $x = -4$ ,  $y = -38$ ,  $z = -30$ , although this result did not survive TFCE correction.

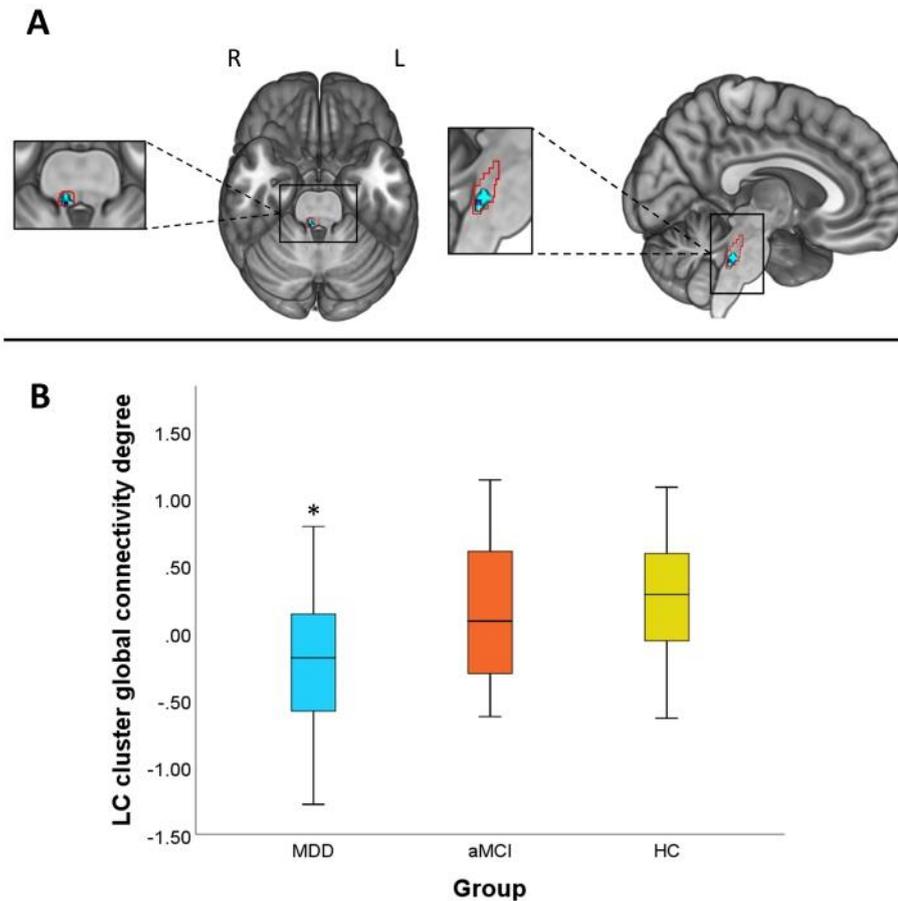
#### 3.2.2. gPPI results

In the oddball > standard contrast, MDD patients showed, in comparison to HCs, lower positive connectivity between the right caudal LC cluster from the above analysis and the left anterior cingulate cortex (ACC), the right fusiform gyrus (FG) and the right cerebellum. When compared to aMCI, we observed lower positive connectivity between the right caudal LC and the posterior cerebellum in MDD patients during oddball stimuli detection as compared to standard stimuli. No differences were observed between aMCI and HCs (see Table 2 and Fig. 2A, C-E).

Finally, in the MDD group, connectivity between the LC and the ACC correlated inversely with GDS score ( $r = -0.471$ ,  $p = 0.036$ ). As can be seen in Fig. 2B, this correlation was indeed reflecting that we had two groups of subjects, those in active depression episode ( $n = 7$ ) and those asymptomatic ( $n = 13$ ). These two groups differed not only in their GDS scores (below and above the 4–5 points used as cut-off), but also in their LC-ACC PPI estimates (Mann-Whitney's  $U = 17$ ;  $Z = -2.26$ ;  $p = 0.024$ ). We also observed a significant negative correlation with the number of recurrences (Ln transformed;  $r = -0.507$ ,  $p = 0.022$ ) (Fig. 2B). These analyses were controlled for age. Controlling for psychotropic medication intake (15 patients were taking dual noradrenaline-serotonin antidepressants, while 5 subjects were taking SSRIs) did not modify our findings. We detected no further correlations between gPPI results and the rest of clinical and performance variables, including the number of errors.

## 4. Discussion

In this study, we used an attentional oddball paradigm to assess subjects with late-life MDD in comparison to individuals with aMCI and HCs. Significant alterations in LC connectivity were specifically observed in the MDD group, and, remarkably, such alterations were associated with clinical severity. Therefore, our results suggest that disrupted connectivity of the LC characterizes individuals with late-life MDD, scaling with disease severity. Contrary to our expectations, however, the aMCI group did not show evidence of LC connectivity alteration, although this group showed an impaired task performance.



**Fig. 1.** Global connectivity results. Patients with late-life MDD showed lower global connectivity degree in the right caudal LC in comparison to aMCI and HC groups. (A) Basal and sagittal view of the LC cluster (in light blue) and peak coordinate (dark blue) ( $p_{FWE} < 0.05$ , TFCE corrected). The cluster is overlaid onto the LC study-specific mask (red contour, see Supplementary material for details). This mask was down-sampled to the resolution of the functional time-series. As can be observed, our cluster was located in the most caudal part of the LC. (B) Box-plot depicting global connectivity degree of the right caudal LC cluster for the three study groups. Values in the Y axis are normalized to fit a Gaussian distribution with zero mean and unitary variance, and, therefore, negative values should not be interpreted as negative connectivity. L = Left, R = Right.  $*p_{FWE} < 0.05$ . (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

**Table 2**  
Between-group differences in LC connectivity during the oddball task.

Contrast	Region	MNI Coordinates (x, y, z)	kE	p value <sup>†</sup>	TFCE value
MDD < HCs	Left anterior cingulate cortex	-2, 32, 20	76	0.028	413.75
	Right fusiform gyrus	40, -48, -24	1100	0.002	602.65
	Vermis lobule VIII	6, -58, -28	115	0.033	403.21
	Right Cerebellum lobe III	10, -38, -18	14	0.036	397.86
	Right Cerebellum lobe VIII	34, -50, -56	162	0.013	466.62
	Right Cerebellum lobe IX	8, -56, -42	64	0.022	431.80
MDD < aMCI	Right Cerebellum lobe III (extending to Left lobe III)	8, -36, -16	372	0.001	662.75

Abbreviations: aMCI = amnesic type mild cognitive impairment individuals; HCs = healthy controls; kE = cluster extent; MDD = late-life major depressive disorder patients; MNI = Montreal Neurological Institute, TFCE = Threshold-Free Cluster Enhancement.

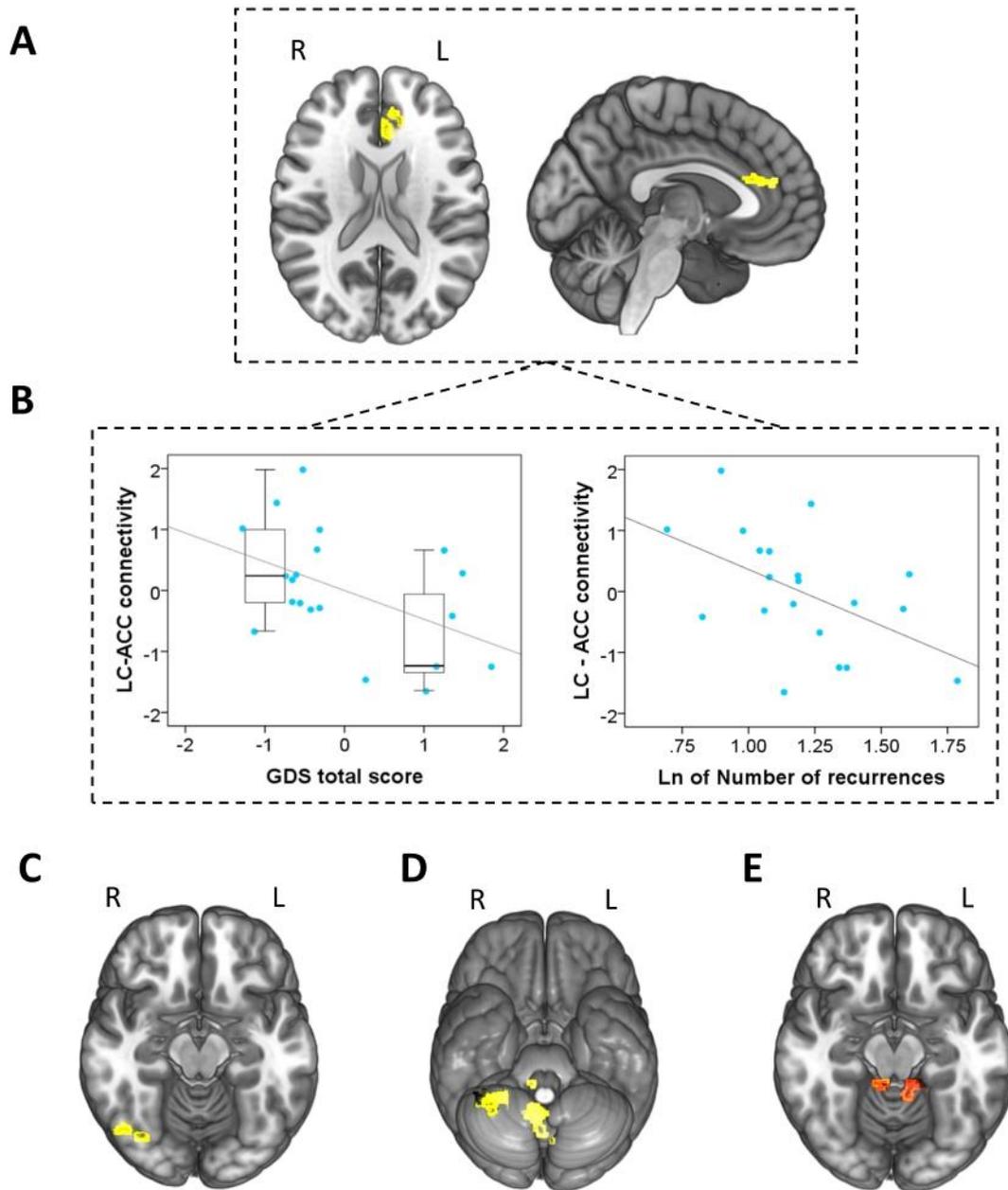
<sup>†</sup> All p-values were FWE-corrected,  $p < 0.05$ .

Specifically, although the clinical groups, when tested against controls, displayed more omission errors, only aMCI individuals showed a higher number of commission errors during oddball performance, which concurs with previous reports (Tsolaki et al., 2017).

Individuals with late-life MDD displayed lower LC connectivity with other brain regions. The role of the LC in depression has been evidenced in previous research, ranging from a loss of NA neurons (Chan-Palay and Asan, 1989), to intra and extra neuronal signaling pathway alterations

(Bernard et al., 2011). Moreover, chemical damage to the LC with selective neurotoxins has been associated to depressive-like behaviors (Szot et al., 2016), such as reduced exploratory activity (van den Buuse et al., 2001), fewer social interactions (Cornwell-Jones et al., 1992), or increased immobility in the forced swim test (Harro et al., 1999). Interestingly, our findings were lateralized to the right LC, although, when lowering the significance threshold, we also observed similar alterations in the left LC. Why in our patients with MDD this alleged pathological processes seems to start in the right hemisphere remains an open question.

Our findings were also located in the most caudal portion of the LC. Although neurons from this location have been reported to be preferentially connecting to the spinal cord (Nakazato, 1987), we observed functional connectivity alterations from there to brain regions such as the ACC and the FG, as well as to the cerebellum. Previous research has shown that, notwithstanding the fact that the LC is not entirely homogeneous, neurons projecting to cortical targets may be scattered throughout the LC (Schwarz and Luo, 2015). Moreover, it has been observed that LC neurons receive input from at least 9–15 different brain regions, which suggests that neural activity in the LC is largely integrative (Schwarz et al., 2015), and is in agreement with our findings showing that the same cluster displays connectivity alterations with cortical and cerebellar regions. The location of our findings in the caudal part of the LC may therefore be the result of the interaction of multiple factors, including the specific clinical groups assessed and the task selected, as well as the existence of a rostro-caudal gradient of neural loss and dysfunction related to age and neurodegeneration staging (Theofilas et al., 2017). In this sense, patients with aMCI have been reported to show connectivity alterations from the LC during resting-state in relation to episodic memory (Jacobs et al., 2015), and the possibility exists that they will show impaired connectivity during oddball



**Fig. 2.** gPPI results. (A) In comparison to HCs, the MDD group showed lower functional connectivity between the right LC and the left anterior cingulate cortex. (B) Scatter plots depicting the negative correlations between connectivity of the right LC with the left ACC and total Geriatric Depression Score (GDS) (left), and the number of depressive recurrences (Ln transformed, right). In the left plot, the qualitative distinction between asymptomatic patients and those in active depression episode is depicted with boxplots. Values in plots are age-adjusted. (C) The functional connectivity between LC and the right fusiform gyrus, (D) the lobule VIII of the vermis, and the right cerebellar lobules III, VIII and IX was also lower in MDD patients in comparison to HCs. (E) In comparison to the aMCI group, patients with MDD showed lower connectivity between the right LC and the bilateral cerebellar lobule III. L = Left, R = Right.

performance from this caudal location at more advanced disease stages, in relation to advanced age and neurodegenerative staging. Nevertheless, some of the previous studies showing functional LC alterations in aMCI (Granhölm et al., 2017; Elman et al., 2017) did not exclude patients with comorbid depression, while our aMCI sample was free from this confounding effect. This may also partially account for the lack of LC connectivity findings reported here in individuals with aMCI. In any case, since we did not make use of any imaging or cerebrospinal fluid biomarker, we cannot confirm that these subjects belong to the AD continuum and will eventually develop AD, which must be considered a study limitation.

Regarding the regions showing lower LC input, the ACC has been consistently reported to show functional alterations in MDD (Bürger

et al., 2017). Such reduced connectivity between the LC and the ACC presumably involves both ascending and descending projections (Aston-Jones and Cohen, 2005). As a central node of the salience network (Menon and Uddin, 2010), the ACC is involved in the detection of relevant stimuli through an adequate arousal inducing NA input (Gompf et al., 2010). At the same time, ACC efferent neural signals reach the LC to inform about performance related costs associated with task difficulty and processing conflicts (Aston-Jones and Cohen, 2005). Positive benefit-cost ratios may shift LC activity into phasic mode, which allows accurately engaging in task performance (Aston-Jones and Cohen, 2005).

Moreover, it is also important to highlight that disrupted connectivity between the LC and the ACC was associated with MDD severity

(GDS scores and number of recurrences), indicating that benefit-cost attentional processes may be increasingly impaired with both current symptom severity and disease burden. Structural ACC abnormalities have indeed been previously related to disease severity in MDD (Bijsterbosch et al., 2018; Satterthwaite et al., 2016). Notably, the correlation with GDS scores was indeed the result of a qualitative difference between asymptomatic patients and those in an active depressive episode, which suggests that LC-ACC connectivity may be a state marker in late-life MDD.

We also observed reduced connectivity in MDD between the LC and the FG, a region robustly related to both neutral (Strange et al., 2000) and emotional oddball stimuli processing (Aleman et al., 2008). During visual attentional tasks, the FG may show hyperreactivity to distracters in patients with MDD, hampering performance (Robertson et al., 2007). Interestingly, treatment with the dual action antidepressant bupropion, which increases synaptic NA levels, modulates such hyperreactivity to distracters in the latter study. This result concurs with our findings and the alleged role of NA in increasing signal-to-noise ratio (Aston-Jones and Waterhouse, 2016), which should result in enhanced focused attention.

Finally, the LC of MDD patients also showed lower functional connectivity with the cerebellum, mainly encompassing the vermis and the posterior cerebellar lobes. Anatomical connections between the LC and the cerebellum have been well established (Sara and Bouret, 2012), and NA connections between these two structures have been implicated in attentional orienting and sensorimotor processing of salient stimuli (Zhang et al., 2016), alterations of arousal state (Song et al., 2017), learning and memory processes through modulation of inhibitory neurotransmission in Purkinje neurons (Hoffer et al., 1973), and enhanced synaptic plasticity resulting from improvements in signal-to-noise ratio of evoked activity (Gould et al., 1997). The vermis and the posterior cerebellar lobes are also densely connected with high-order cognitive regions such as the prefrontal, parahippocampal or cingulate cortices, and, consequently, decreased NA input to the cerebellum may indirectly alter neural processing in such areas (Arrigo et al., 2014; Kelly and Strick, 2003). Indeed, abnormal functional connectivity between the cerebellum and fronto-parieto-temporal regions has been shown in MDD samples (Yin et al., 2015).

This is the first study comparing functional preservation of the LC in two clinical groups by means of an interregional correlation analysis during a visual oddball task. Moreover, since the LC is a tiny structure difficult to localize in fMRI time-series, our functional findings were overlaid onto a study-specific LC map, which confirmed the precise location of our findings in the most caudal part of the nucleus. In any case, some limitations should be acknowledged. Despite all participants were carefully characterized at the clinical and neuropsychological level, because of our naturalistic and consecutive recruitment strategy, the aMCI group was somewhat older than the other two groups. Nevertheless, age was controlled for in all analyses, and the main results of the study involved the MDD group, which did not differ in age from HCs. Likewise, our study would have probably benefited from the comparison with a group of younger patients with MDD, what would have also allowed to ascertain whether the reported findings characterize the MDD phenotype regardless of the age of the subjects. Moreover, our group patients with aMCI included fewer participants than the other two groups, which may have limited the power to detect significant differences. The methods employed in this study do also have some limitations. More specifically, our functional sequence was acquired with large voxels and we used a large smoothing kernel, which was needed to keep a good signal-to-noise ratio, certainly at the expenses of a greater spatial resolution. Further research with high-field MRI is warranted to overcome this issue (see, for instance, Jacobs et al. (2020)). BOLD fMRI, in addition, does not probably allow to detect fast changes in neuronal firing related to shifts from tonic to phasic activity in the LC. In this case, it might be of interest to combine fMRI with methods of higher temporal resolution. Finally, our correlation analyses between imaging and

clinical data were exploratory and not corrected for multiple comparisons, and should therefore be interpreted with caution.

In conclusion, this study provides the first evidence of altered functional connectivity of the LC in patients with late-life MDD. Although previous research has identified AD-related neuropathological signs in this noradrenergic source, we have not detected any significant alteration in patients with aMCI, and, therefore, our finding seems to specifically characterize the late-life MDD phenotype. In this sense, we have also observed that connectivity alterations from the LC involved different brain areas, such as the ACC, relevantly involved in MDD pathophysiology, and such alterations were related to current clinical severity and burden of disease. Further research assessing the putative modulation of our results by noradrenergic agents, such as dual action antidepressants, will elucidate whether interventions on the noradrenergic system may be considered as the first-line treatment option for patients with late-life MDD.

#### Declaration of Competing Interest

The authors report no biomedical financial interests or potential conflicts of interest regarding this work. Dr. Soria served as a consultant or continuing medical education (CME) speaker for Lundbeck, Otsuka, Janssen-Cilag, Exeltis. Dr. Urretavizcaya has received compensation for lectures, advisories, or grants from Janssen-Cilagand, Lundbeck. Dr. Menchón has received grants and served as a consultant, advisor or CME speaker for Janssen-Cilag, Lundbeck, Medtronic, Otsuka. All other authors have nothing to disclose nor have any financial relationships with commercial interests.

#### Acknowledgments

The authors are grateful to all of the study participants and their families, and to the staff and technicians of Bellvitge University Hospital and Duran i Reynals Hospital who helped to recruit the sample for this study. We thank CERCA Programme / Generalitat de Catalunya for institutional support.

#### Funding

This study was supported by the Agency for Management of University and Research Grants of the Catalan Government (2017SGR1247), the Department of Health of the Generalitat de Catalunya (PERIS grant SLT002/16/249), the Carlos III Health Institute, Spain (Grant PIE14/00034 and CIBERSAM), and FEDER Funds/European Regional Development Fund (ERDF) ('A way to build Europe'). IdC is supported by CIBERSAM and previously by a Ph.D. FI Grant from AGAUR-Catalan Government (2016FI\_B 00712), grant co-funded by the European Social Fund (ESF) "ESF, Investing in your future". IM-Z is supported by a P-FIS grant (FI17/00294) from the Carlos III Health Institute (Spain). AG-I was supported by a FPU 14/04822 grant. MU has been funded by the Carlos III Health Institute through the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness. IF is supported by CIBERNED and JMM has received grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and CIBERSAM. VS has received grants from the Institute of Health Carlos III through the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and CS-M is supported by a Miguel Servet contract (CPII16/00048) from the Carlos III Health Institute (Spain).

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2020.102482>.

## References

- Aleman, A., Swart, M., 2008. Sex differences in neural activation to facial expressions denoting contempt and disgust. *Baune B*, editor. *PLoS One* 3 (2008) e3622.
- Andrés-Benito, P., Fernández-Dueñas, V., Carmona, M., Escobar, L.A., Torrejón-Escribano, B., Aso, E., Ciruela, F., Ferrer, I., 2017. Locus coeruleus as asymptomatic early and middle Braak stages of neurofibrillary tangle pathology. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 43 (5), 373–392. <https://doi.org/10.1111/na.12386>.
- Arrigo, A., Mormina, E., Anastasi, G.P., et al., 2014. Constrained spherical deconvolution analysis of the limbic network in human, with emphasis on a direct cerebello-limbic pathway. *Front. Hum. Neurosci.* 8, 987.
- Aston-Jones, G., Cohen, J.D., 2005. Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance. *J. Comp. Neurol.* 493 (1), 99–110. <https://doi.org/10.1002/cne.20723>.
- Aston-Jones, G., Cohen, J.D., 2005. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu. Rev. Neurosci.* 28 (1), 403–450. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.28.061604.135709>.
- Aston-Jones, G., Rajkowski, J., Kubiak, P., Alexinsky, T., 1994. Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J. Neurosci.* 14 (7), 4467–4480. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-07-04467.1994>.
- Aston-Jones, G., Waterhouse, B., 2016. Locus coeruleus: from global projection system to adaptive regulation of behavior. *Brain Res.* 1645, 75–78. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.03.001>.
- Baumann, B., Danos, P., Krell, D., Diekmann, S., Wurthmann, C., Bielau, H., Bernstein, H.-G., Bogerts, B., 1999. Unipolar-bipolar dichotomy of mood disorders is supported by noradrenergic brainstem system morphology. *J. Affect. Disord.* 54 (1–2), 217–224. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(98\)00168-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(98)00168-2).
- Behzadi, Y., Restom, K., Liu, J., Liu, T.T., 2007. A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *NeuroImage* 37 (1), 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.04.042>.
- Bernard, R., Kerman, I.A., Thompson, R.C., Jones, E.G., Bunney, W.E., Barchas, J.D., Schatzberg, A.F., Myers, R.M., Akil, H., Watson, S.J., 2011. Altered expression of glutamate signaling, growth factor, and glia genes in the locus coeruleus of patients with major depression. *Mol. Psychiatry* 16 (6), 634–646. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.44>.
- Bijsterbosch, J.D., Ansari, T.L., Smith, S., Gauld, O., Zika, O., Boessenkool, S., Browning, M., Reinecke, A., Bishop, S.J., 2018. Stratification of MDD and GAD patients by resting state brain connectivity predicts cognitive bias. *NeuroImage: Clin.* 19, 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.04.033>.
- Braak, H., Del Tredici, K., 2011. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol.* 121 (2), 171–181. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0789-4>.
- Braak, H., Del Tredici, K., 2015. The preclinical phase of the pathological process underlying sporadic Alzheimer's disease. *Brain* 138 (10), 2814–2833. <https://doi.org/10.1093/brain/awv236>.
- Braak, H., Thal, D.R., Ghebremedhin, E., Del Tredici, K., 2011. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 70 (11), 960–969. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318232a379>.
- Bürger, C., Redlich, R., Grotegerd, D., Meinert, S., Dohm, K., Schneider, I., Zaremba, D., Förster, K., Alferink, J., Bolte, J., Heindel, W., Kugel, H., Arolt, V., Dannlowski, U., 2017. Differential abnormal pattern of anterior cingulate gyrus activation in unipolar and bipolar depression: an fMRI and pattern classification approach. *Neuropsychopharmacology* 42 (7), 1399–1408. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.36>.
- Busse, A., Hensel, A., Guhne, U., Angermeyer, M.C., Riedel-Heller, S.G., 2006. Mild cognitive impairment: long-term course of four clinical subtypes. *Neurology* 67 (12), 2176–2185. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000249117.23318.e1>.
- Byers, A.L., Yaffe, K., 2011. Depression and risk of developing dementia. *Nat. Rev. Neurol.* 7 (6), 323–331. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2011.60>.
- Chan-Palay, V., Asan, E., 1989. Quantitation of catecholamine neurons in the locus coeruleus in human brains of normal young and older adults and in depression. *J. Comp. Neurol.* 287 (3), 357–372. <https://doi.org/10.1002/cne.902870307>.
- Cornwell-Jones, C.A., Palfai, T., Krasenbaum, D., Byer Jr., E., Clark, R., Kinnard, K., 1992. Housing influences exploration and social interaction of control and DSP-4-treated rats. *Physiol. Behav.* 52 (2), 271–276. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90270-c](https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90270-c).
- Devilbiss, D.M., 2004. The effects of tonic locus coeruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J. Neurosci.* 24 (48), 10773–10785. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1573-04.2004>.
- Elman, J.A., Panizzon, M.S., Hagler Jr., D.J., Eyler, L.T., Granholm, E.L., Fennema-Notestine, C., Lyons, M.J., McEvoy, L.K., Franz, C.E., Dale, A.M., Kremen, W.S., 2017. Task-evoked pupil dilation and BOLD variance as indicators of locus coeruleus dysfunction. *Cortex* 97, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2017.09.025>.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R., 1975. Mini-mental state. *J. Psychiatry Res.* 12 (3), 189–198. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6).
- Gannon, M., Wang, Q., 2019. Complex noradrenergic dysfunction in Alzheimer's disease: low norepinephrine input is not always to blame. *Brain Res.* 1702, 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.01.001>.
- Gompf, H.S., Mathai, C., Fuller, P.M., Wood, D.A., Pedersen, N.P., Saper, C.B., Lu, J., 2010. Locus coeruleus and anterior cingulate cortex sustain wakefulness in a novel environment. *J. Neurosci.* 30 (43), 14543–14551. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3037-10.2010>.
- Gould, T.J., Adams, C.E., Bickford, P.C., 1997. Beta-adrenergic modulation of GABAergic inhibition in the deep cerebellar nuclei of F344 rats. *Neuropharmacology* 36, 75–81.
- Granholm, E.L., Panizzon, M.S., Elman, J.A., et al., 2017. Pupillary responses as a biomarker of early risk for Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Dis.* 56, 1419–1428.
- Green, R.C., Cupples, L.A., Kurz, A., Auerbach, S., Go, R., Sadovnick, D., Duara, R., Kukull, W.A., Chui, H., Edeki, T., Griffith, P.A., Friedland, R.P., Bachman, D., Farrer, L., 2003. Depression as a risk factor for Alzheimer disease: the MIRAGE study. *Arch. Neurol.* 60 (5), 753. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.5.753>.
- Grudzien, A., Shaw, P., Weintraub, S., Bigio, E., Mash, D.C., Mesulam, M.M., 2007. Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 28 (3), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.02.007>.
- Hamilton, M., 1960. A rating scale for depression. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 23 (1), 56–62. <https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56>.
- Harro, J., Pähkla, R., Modiri, A.-R., Harro, M., Kask, A., Oreland, L., 1999. Dose-dependent effects of noradrenergic denervation by DSP-4 treatment on forced swimming and  $\beta$ -adrenoceptor binding in the rat. *J. Neural Transm.* 106 (7–8), 619–629. <https://doi.org/10.1007/s007020050184>.
- Hoffer, B.J., Siggins, G.R., Oliver, A.P., et al., 1973. Activation of the pathway from locus coeruleus to rat cerebellar Purkinje neurons: pharmacological evidence of noradrenergic central inhibition. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 184, 553–569.
- Hughes, C.P., Berg, L., Danziger, W., Coben, L.A., Martin, R.L., 1982. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br. J. Psychiatry* 140 (6), 566–572. <https://doi.org/10.1192/bjp.140.6.566>.
- Jack Jr., C.R., Bennett, D.A., Blennow, K., Carrillo, M.C., Dunn, B., Haeberlein, S.B., Holtzman, D.M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J.L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K.P., Rowe, C.C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H.M., Sperling, R., Elliott, C., Masliah, E., Ryan, L., Silverberg, N., 2018. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia* 14 (4), 535–562. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>.
- Jacobs, H.I.L., Wiese, S., van de Ven, V., Gronenschild, E.H.B.M., Verhey, F.R.J., Matthews, P.M., 2015. Relevance of parahippocampal-locus coeruleus connectivity to memory in early dementia. *Neurobiol. Aging* 36 (2), 618–626. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.10.041>.
- Jacobs, H.I.L., Priovoulos, N., Poser, B.A., et al., 2020. Dynamic behavior of the locus coeruleus during arousal-related memory processing in a multi-modal 7T fMRI paradigm. *Elife eLife Sciences Publications Ltd* 9, 1–30.
- Kelly, R.M., Strick, P.L., 2003. Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. *J. Neurosci.* 23 (23), 8432–8444. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-23-08432.2003>.
- Maldjian, J.A., Laurienti, P.J., Kraft, R.A., Burdette, J.H., 2003. An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *NeuroImage* 19 (3), 1233–1239. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(03\)00169-1](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00169-1).
- Martínez de la Iglesia, J., Onís Vilches, M.C., Duenas Herrero, R., et al., 2002. The Spanish version of the Yesavage abbreviated questionnaire (GDS) to screen depressive dysfunctions in patients older than 65 years. *MEDIFAM* 12, 620–630.
- Martuzzi, R., Ramani, R., Qiu, M., Shen, X., Papademetris, X., Constable, R.T., 2011. A whole-brain voxel based measure of intrinsic connectivity contrast reveals local changes in tissue connectivity with anesthetic without a priori assumptions on thresholds or regions of interest. *NeuroImage* 58 (4), 1044–1050. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.075>.
- Menon, V., Uddin, L.Q., 2010. Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain Struct. Funct.* 214 (5–6), 655–667. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0262-0>.
- Nakazato, T., 1987. Locus coeruleus neurons projecting to the forebrain and the spinal cord in the cat. *Neuroscience* 23 (2), 529–538. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90074-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90074-1).
- Nichols, T.E., Holmes, A.P., 2001. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Hum. Brain Mapp.* 15, 1–25.
- Patel, A.X., Kundu, P., Rubinov, M., Jones, P.S., Vértes, P.E., Ersche, K.D., Suckling, J., Bullmore, E.T., 2014. A wavelet method for modeling and despiking motion artifacts from resting-state fMRI time series. *NeuroImage* 95, 287–304. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.03.012>.
- Petersen, R.C., 2004. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med.* 256 (3), 183–194. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01388.x>.
- Rajkowski, J., Kubiak, P., Aston-Jones, G., 1994. Locus coeruleus activity in monkey: phasic and tonic changes are associated with altered vigilance. *Brain Res. Bull.* 35 (5–6), 607–616. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(94\)90175-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(94)90175-9).
- Robertson, B., Wang, L., Diaz, M.T., Aiello, M., Gersing, K., Beyer, J., Mukundan Jr, S., McCarthy, G., Doraiswamy, P.M., 2007. Effect of bupropion extended release on negative emotion processing in major depressive disorder: a pilot functional magnetic resonance imaging study. *J. Clin. Psychiatry* 68 (02), 261–267. <https://doi.org/10.4088/JCP.v68n0212>.
- Sara, S., Bouret, S., 2012. Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron* 76 (1), 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.011>.
- Satterthwaite, T.D., Elliott, M.A., Gerraty, R.T., Ruparel, K., Loughhead, J., Calkins, M.E., Eickhoff, S.B., Hakonarson, H., Gur, R.C., Gur, R.E., Wolf, D.H., 2013. An improved framework for confound regression and filtering for control of motion artifact in the preprocessing of resting-state functional connectivity data. *NeuroImage* 64, 240–256. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.08.052>.
- Satterthwaite, T.D., Cook, P.A., Bruce, S.E., Conway, C., Mikkelsen, E., Satchell, E., Vandekar, S.N., Durbin, T., Shinohara, R.T., Sheline, Y.I., 2016. Dimensional depression severity in women with major depression and post-traumatic stress disorder correlates with fronto-amygdalar hypoconnectivity. *Mol. Psychiatry* 21 (7), 894–902. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.149>.
- Schwarz, L.A., Luo, L., 2015. Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. *Curr. Biol.* 25 (21), R1051–R1056. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.039>.

- Schwarz, L.A., Miyamichi, K., Gao, X.J., Beier, K.T., Weissbourd, B., DeLoach, K.E., Ren, J., Ibanes, S., Malenka, R.C., Kremer, E.J., Luo, L., 2015. Viral-genetic tracing of the input-output organization of a central noradrenergic circuit. *Nature* 524 (7563), 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature14600>.
- Scian, S.G., Reisberg, B., 1992. Functional assessment staging (FAST) in Alzheimer's disease: reliability, validity, and ordinality. *Int. Psychogeriatrics* 4 (3), 55–69. <https://doi.org/10.1017/S1041610292001157>.
- Smith, S., Nichols, T., 2009. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *NeuroImage* 44 (1), 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.03.061>.
- Song, A.H., Kucyi, A., Napadow, V., Brown, E.N., Loggia, M.L., Akeju, O., 2017. Pharmacological modulation of noradrenergic arousal circuitry disrupts functional connectivity of the locus coeruleus in humans. *J. Neurosci.* 37 (29), 6938–6945. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0446-17.2017>.
- Strange, B.A., Henson, R.N.A., Friston, K.J., Dolan, R.J., 2000. Brain mechanisms for detecting perceptual, semantic, and emotional deviance. *NeuroImage* 12 (4), 425–433. <https://doi.org/10.1006/nimg.2000.0637>.
- Szot, P., Franklin, A., Miguez, C., Wang, Y., Vidaurazaga, I., Ugedo, L., Sikkema, C., Wilkinson, C.W., Raskind, M.A., 2016. Depressive-like behavior observed with a minimal loss of locus coeruleus (LC) neurons following administration of 6-hydroxydopamine is associated with electrophysiological changes and reversed with precursors of norepinephrine. *Neuropharmacology* 101, 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.09.003>.
- Theofilas, P., Ehrenberg, A.J., Dunlop, S., Di Lorenzo Alho, A.T., Nguy, A., Leite, R.E.P., Rodriguez, R.D., Mejia, M.B., Suemoto, C.K., Ferretti-Rebustini, R.E.D.L., Polichiso, L., Nascimento, C.F., Seeley, W.W., Nitri, R., Pasqualucci, C.A., Jacob Filho, W., Rueb, U., Neuhaus, J., Heinsen, H., Grinberg, L.T., 2017. Locus coeruleus volume and cell population changes during Alzheimer's disease progression: a stereological study in human postmortem brains with potential implication for early-stage biomarker discovery. *Alzheimer's Dementia* 13 (3), 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.06.2362>.
- Tsolaki, A.C., Kosmidou, V., Kompatsiaris, I., Papadaniil, C., Hadjileontiadis, L., Adam, A., Tsolaki, M., 2017. Brain source localization of MMN and P300 ERPs in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a high-density EEG approach. *Neurobiol. Aging* 55, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.03.025>.
- Tsopelas, C., Stewart, R., Savva, G.M., et al., 2011. Neuropathological correlates of late-life depression in older people. *Br. J. Psychiatry* 198, 109–114.
- van den Buuse, M., Lambert, G., Flutterm, M., Eikelis, N., 2001. Cardiovascular and behavioural responses to psychological stress in spontaneously hypertensive rats: effect of treatment with DSP-4. *Behav. Brain Res.* 119 (2), 131–142. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(00\)00349-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(00)00349-1).
- Van Dijk, K.R.A., Hedden, T., Venkataraman, A., Evans, K.C., Lazar, S.W., Buckner, R.L., 2010. Intrinsic functional connectivity as a tool for human connectomics: theory, properties, and optimization. *J. Neurophysiol.* 103 (1), 297–321. <https://doi.org/10.1152/jn.00783.2009>.
- Wechsler, D., 1997. Wechsler Memory Scale - Third Edition (WAIS-III), 3rd ed. The Psychological Corporation.
- Weinberg-Wolf, H., Fagan, N.A., Anderson, G.M., Tringides, M., Dal Monte, O., Chang, S.W.C., 2018. The effects of 5-hydroxytryptophan on attention and central serotonin neurochemistry in the rhesus macaque. *Neuropsychopharmacology* 43 (7), 1589–1598. <https://doi.org/10.1038/s41386-017-0003-7>.
- Whitfield-Gabrieli, S., Nieto-Castanon, A., 2012. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect.* 2 (3), 125–141. <https://doi.org/10.1089/brain.2012.0073>.
- Yin, Y., Hou, Z., Wang, X., Sui, Y., Yuan, Y., 2015. Association between altered resting-state cortico-cerebellar functional connectivity networks and mood/cognition dysfunction in late-onset depression. *J. Neural Transm.* 122 (6), 887–896. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1347-3>.
- Zarow, C., Lyness, S.A., Mortimer, J.A., Chui, H.C., 2003. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson Diseases. *Arch. Neurol.* 60 (3), 337. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.3.337>.
- Zhang, S., Hu, S., Chao, H.H., Li, C.-S., 2016. Resting-state functional connectivity of the locus coeruleus in humans: in comparison with the ventral tegmental area/substantia nigra pars compacta and the effects of age. *Cereb. Cortex* 26 (8), 3413–3427. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv172>.



## Supplementary Material

### Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task

Inés del Cerro<sup>1,2,3</sup>, M.Sc., Ignacio Martínez-Zalacaín<sup>1,2</sup>, M.Sc., Andrés Guinea-Izquierdo<sup>1,2</sup>, M.Sc., Jordi Gascón-Bayarri<sup>4</sup>, M.D., Vanesa Viñas-Diez<sup>4</sup>, M.Sc., Mikel Urretavizcaya<sup>1,2,3</sup>, M.D., Ph. D., Pablo Naval-Baudin<sup>5</sup>, M.D., Carlos Aguilera<sup>5</sup>, M.D., Ramón Reñé-Ramirez<sup>4</sup>, M.D., Ph.D., Isidre Ferrer<sup>6,7,8</sup>, M.D., Ph. D., José M. Menchón<sup>1,2,3</sup>, M.D., Ph.D., Virginia Soria<sup>\*1,2,3</sup>, M.D., Ph. D., Carles Soriano-Mas<sup>\*1,3,9</sup>, Ph. D.

1. Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Psychiatry, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain
2. Department of Clinical Sciences, Bellvitge Campus, University of Barcelona, Barcelona, Spain
3. Network Center for Biomedical Research on Mental Health (CIBERSAM), Carlos III Health Institute (ISCIII), Barcelona, Spain
4. Dementia Diagnostic and Treatment Unit, Department of Neurology, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain
5. Imaging Diagnostic Institute (IDI), Neuroradiology Unit, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain
6. Department of Pathology and Experimental Therapeutics, Institute of Neurosciences, University of Barcelona, Barcelona, Spain
7. Bellvitge Biomedical Research Institute-IDIBELL, Department of Pathologic Anatomy, Bellvitge University Hospital, Barcelona, Spain
8. Network Center for Biomedical Research on Neurodegenerative diseases (CIBERNED), Barcelona, Spain
9. Department of Psychobiology and Methodology in Health Sciences, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

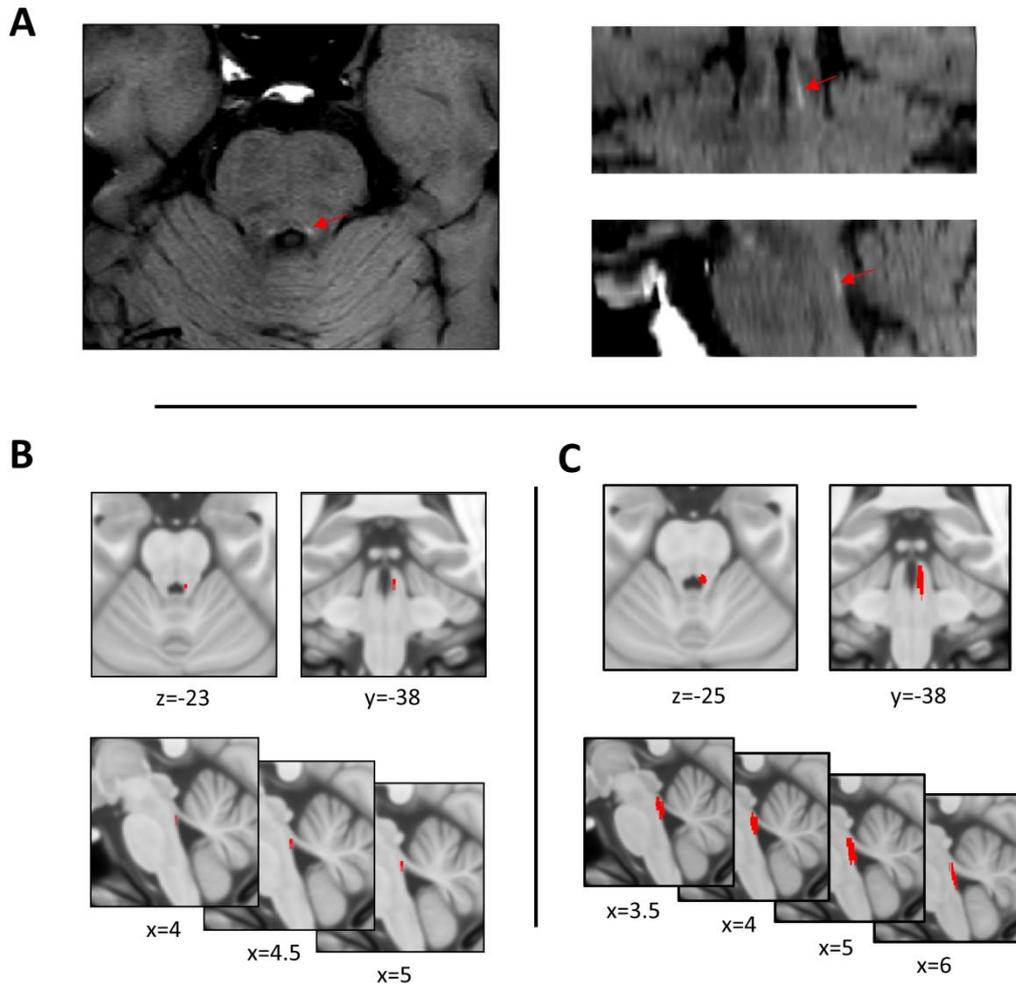
## Localization of the LC

To localize the LC, we used a T1-weighted fast spin-echo sequence (see **Figures S1A and S2**, below) and a semi-automated “in-house” approach. This sequence has been traditionally known as a neuromelanin-sensitive sequence, although recent reports(569) suggest that the hyperintensities allowing LC identification are indeed not stemming from the neuromelanin content of the nucleus. We focused our analysis on the region of the dorsal pons. Specifically, our approach was based in previous studies(570) and consisted of two main steps:

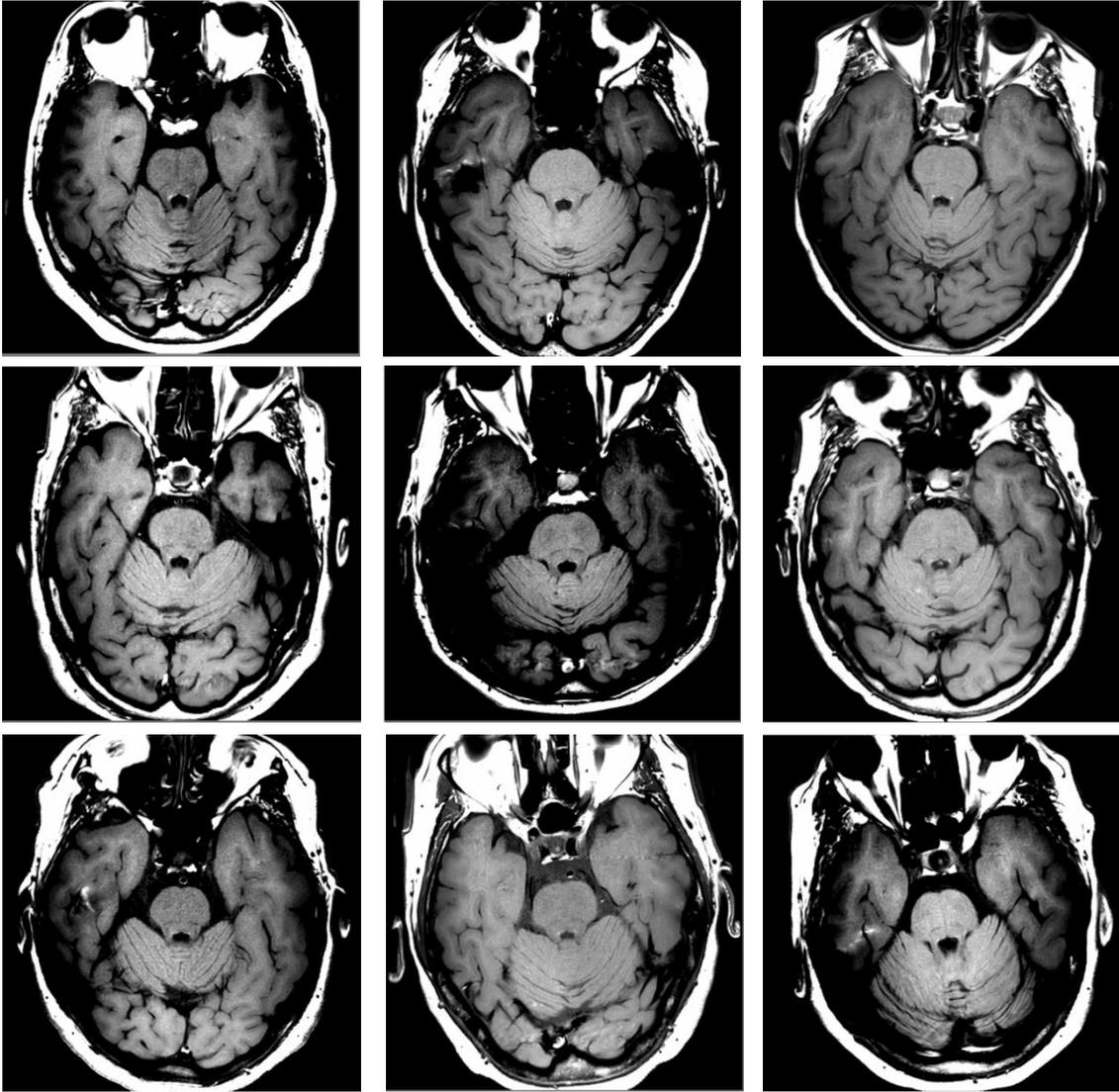
*A): Delineation of regions of interest (ROIs):* We defined two rectangular ROIs onto a gray matter tissue probability map (TPM) extracted from the Statistical Parametric Mapping (SPM 12) software (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>). Specifically, these ROIs were symmetrically located in the left and right areas of the dorsal pons where the LC is expected to be found, adjacent to the floor of the fourth ventricle and extending to the level of the inferior colliculi. The ROIs, drawn in normalized MNI space, were then de-normalized to the native space of each participant. However, due to the small size of the locus coeruleus and the anisotropic voxel size of the images, the T1-weighted fast spin-echo sequence was not manipulated and used as reference, therefore avoiding interpolation artifacts and preserving the original signal. Consequently, we first coregistered, for each participant and in native space, the whole-brain T1 image to the T1-weighted fast spin-echo sequence. Next, the TPM and the two ROIs in MNI space were coregistered to the whole-brain T1 image from the previous step, and such individual whole-brain T1 images were normalized to the coregistered TPM, which generated a deformation field. The inverse of the deformation field was calculated by using the deformation function in SPM, taking the T1-weighted fast spin-echo sequence as the image to base the inversion on. The ROIs were then de-normalized to each participant native space by applying the inverse of the deformation fields. Finally, these ROIs were binarized with a cut-off value of 0.1 (using the `ImCalc` function; `i1>0.1`), and each binarized ROI was applied to the T1-weighted fast spin-echo sequence (`ImCalc` function; `i1.*i2`), which effectively removed from these images all the information outside the ROIs. Therefore, the final output of the process were 2 images for participant, in native space, corresponding to the projection of each ROI into the images of the T1-weighted fast spin-echo sequence.

*B): Localization of the LC using a growing algorithm.* This second step was implemented using an in-house growing algorithm, programmed in MATLAB version 9.3 (R2017b) (The MathWorks Inc, Natick, Massachusetts), which was applied to the final output images from step A), which encompassed the LC region. Specifically, the algorithm searched throughout these images the

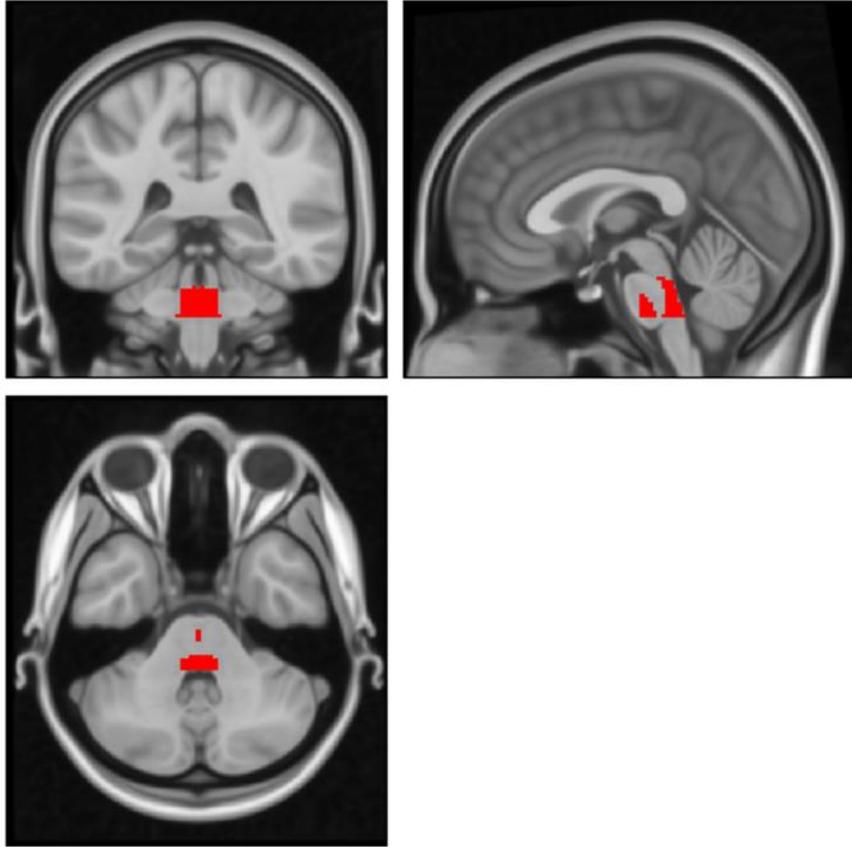
10 clusters of 10 contiguous voxels (face and/or edge and/or vertex contiguity) with the highest intensity (highest mean intensity of the cluster). These clusters were visually inspected for their anatomical correspondence with the region of the LC. In case the cluster with highest intensity was deemed to be outside the LC region, the second cluster was inspected, and so on. Finally, we obtained, for each participant, the 10-voxel cluster of highest signal intensity within the LC region. These clusters were transformed to MNI space using a DARTEL algorithm and the flow fields derived from the normalization of each individual whole-brain T1 scan to the standard TPM template. Finally, the clusters were aggregated to create a sample-specific LC mask, which was down-sampled to the resolution of functional images (see **Figure S1B-C**, below). Functional images had been previously coregistered to whole-brain T1 and T1-weighted fast spin-echo sequences in native space. For each individual, deformation fields from whole-brain T1 were applied to their respective functional time series, which were then in normalized MNI space and spatially registered to structural images.



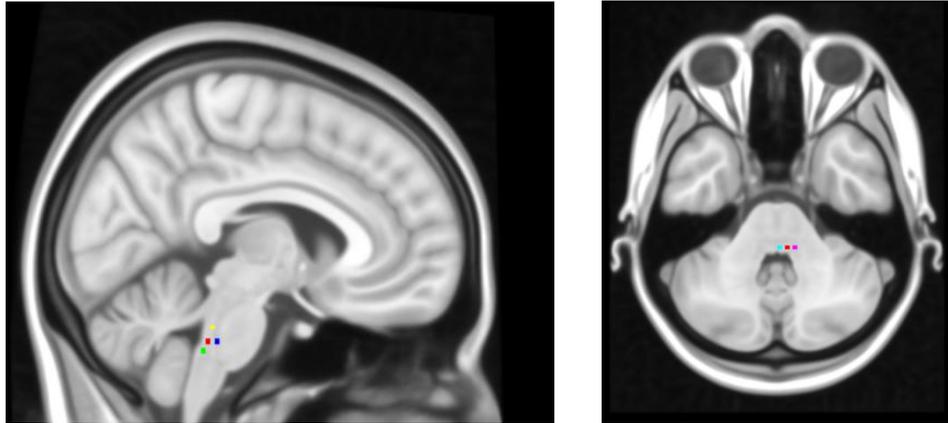
**Figure S1.** (A) A T1-weighted fast spin-echo sequence was acquired for LC localization purposes. In axial (left), coronal (top right) and sagittal (bottom right) views, regions with LC neurons display higher T1 intensities (red arrows). (B) The LC masks from each participant in MNI space (top, example of the right LC from one representative participant) were aggregated to create a sample-specific LC mask (C), which was adjusted to the resolution of functional images.



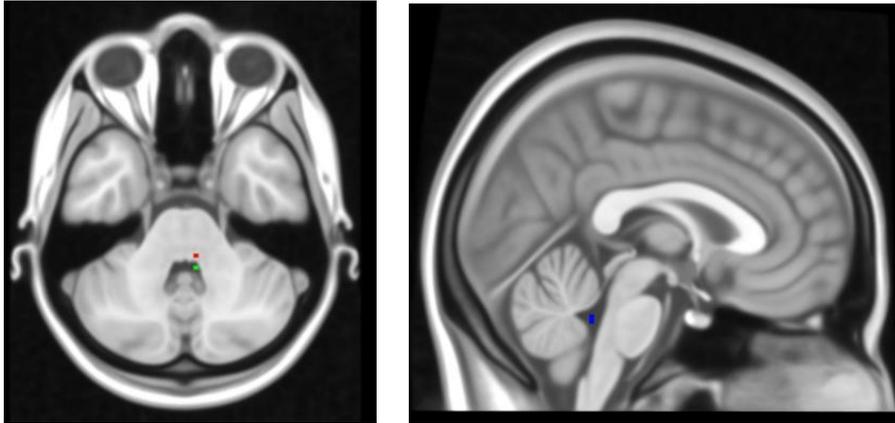
**Figure S2.** Axial slices at the level of the pontine tegmentum of nine representative individuals (from the three study groups) from the T1-weighted fast spin-echo sequence used for LC localization. The LC is visible as two symmetric hyperintensities ventral to the fourth ventricle.



**Figure S3.** Coronal, sagittal and axial views of the mask used in our analyses, encompassing the gray matter voxels from the pons.



**Figure S4.** The peak coordinate of our main finding, located in the caudal LC ( $x, y, z=6, -38, -36$ ) is depicted in red in selected sagittal (left) and axial (right) slices of an MNI brain template. We estimated the global connectivity degree of five different seeds, finding no significant across-group differences for none of them (all  $P_s > 0.05$ ). These seeds were located ventral (dark blue;  $x, y, z=6, -34, -36$ ;  $F_{(2,59)}=3.14$ ), rostral (yellow;  $x, y, z=6, -36, -30$ ;  $F_{(2,59)}=2.55$ ), caudal (green;  $x, y, z=6, -40, -40$ ;  $F_{(2,59)}=1.41$ ), lateral (purple;  $x, y, z=10, -38, -36$ ;  $F_{(2,59)}=1.98$ ) and medial (pale blue;  $x, y, z=2, -38, -36$ ;  $F_{(2,59)}=2.50$ ) in relation to our peak coordinate (red). All these seeds were located in the pontine tegmentum, and the yellow seed was, in addition, located within the LC.



**Figure S5.** The peak coordinate of our main finding, located in the caudal LC ( $x, y, z=6, -38, -36$ ) is depicted in red in the axial slice of an MNI brain template (left). We estimated the global connectivity degree of two different seeds from the fourth ventricle, finding no significant across-group differences for none of them (all  $P_s > 0.05$ ). These seeds were located immediately dorsal to our result (green;  $x, y, z=6, -44, -36$ ;  $F(2,59)=2.56$ ), and in a more medial position within the fourth ventricle (blue seed in the sagittal image;  $x, y, z=2, -44, -30$ ;  $F(2,59)=0.36$ ).

**Table S1.** Study excluded participants and reasons for exclusion

<b>Reason for exclusion</b>	<b>Number of participants and group</b>
Anxiety episode in the scanner	2 HCs 1 MDD
Denied to perform MRI after undergoing the rest of the assessment	2 HCs 2 aMCI 2 MDD
Previously uninformed MRI incompatibilities	1 HC 1 aMCI
Did not understand the task	3 aMCI 2 MDD
Did not discriminate oddball stimuli (even with visual correction)	2 HCs 1 MDD
Excessive movement during MRI acquisition	1 aMCI 1 MDD
Clinical Dementia Rating score of 1	2 aMCI 1 MDD

**Table S2.** Neuropsychological battery used in the study

<b>Neuropsychological domain</b>	<b>Tests used to assess the domain</b>
Orientation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temporal, Spatial and Personal Orientation (Barcelona Test)</li> </ul>
Attention/Working memory	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Digit Span forwards and backwards (Wechsler Adult Intelligence Scale - Third Edition (WAIS-III))</li> <li>• Corsi block-tapping test</li> </ul>
Verbal learning and memory	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Word List Learning and Logical Memory tests (Wechsler Memory Scale - Third Edition (WMS-III))</li> </ul>
Executive functions	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Automatic Inhibition subtest (Syndrom Kurtz Test (SKT))</li> <li>• Phonetic verbal fluency (words beginning with "P" during one minute)</li> <li>• Semantic verbal fluency ('animals' during one minute)</li> <li>• Symbol Digit Modalities Test (SDMT)</li> <li>• Similarities (WAIS-III)</li> </ul>
Language	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Boston Naming Test</li> <li>• Abbreviated version of the Token Test</li> </ul>
Visual gnosias and motor praxis	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 15-Object Test</li> <li>• Block Design (WAIS-IV)</li> <li>• Ideomotor and imitation praxis (Barcelona Test)</li> </ul>

**Table S3.** Across-group comparisons in neuropsychological testing‡

	MDD (n=20)		aMCI (n=16)		HCs (n=26)		F	df	p Value
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD			
WAIS-III									
Digit span forwards	4.67	0.900	5.36	1.598	6.00	0.858	8.122	61	0.362
Digit span backwards	3.20	0.941	3.64	0.745	4.55	1.146	11.085	61	0.362
Similarities	10.70	3.230	10.81	1.974	13.96	1.455	14.847	59	0.492
Corsi tapping test forwards	5.53	1.187	6.07	1.072	7.20	1.542	10.795	61	0.332
Corsi tapping test backwards	4.47	1.457	5.36	1.550	6.80	1.508	16.763	61	0.151
SKT									
Total time	33.27	7.592	37.21	12.173	20.80	4.514	21.351	57	0.031 <sup>*,§</sup>
Total errors	1.33	0.976	2.29	1.816	0.20	0.523	15.133	56	0.051
Semantic fluency	16.20	5.294	12.86	2.797	21.40	4.893	17.271	61	0.058
Phonemic fluency	11.87	4.749	10.21	3.725	14.65	3.924	9.030	61	0.385
Boston Naming Test	44.67	6.619	43.00	6.748	51.80	3.820	19.205	61	0.193
WMS-III									
Total learning	26.47	4.340	17.57	5.185	34.00	4.353	56.484	61	0.004 <sup>*,§,†</sup>
Delayed recall	6.00	1.964	1.93	1.385	8.50	1.638	62.983	61	0.004 <sup>*,§,†</sup>
Recognition	21.87	1.922	18.14	3.613	23.45	0.605	30.818	61	0.004 <sup>*,§,†</sup>
SDMT	23.80	11.888	17.21	8.414	42.00	8.856	40.528	61	0.004 <sup>*,§,†</sup>
Token Test	29.85	3.566	29.88	3.223	34.41	1.304	20.897	59	0.232
15-Object Test	12.05	2.038	11.56	1.999	14.15	0.925	15.352	59	0.157
Block Design (WAIS-IV)	20.85	8.911	21.63	6.152	37.12	10.734	22.805	59	0.183

‡ Results are presented controlling for premorbid intelligence (Vocabulary Scores). Abbreviations: aMCI= amnesic type mild cognitive impairment individuals; HCs= healthy controls; MDD= late-life major depression disorder; SD= standard deviation; SDMT= The Symbol Digit Modalities Test; SKT= Syndrom Kurz Test; WAIS-III= Weschler Adult Intelligence Scale, third edition; WMS-III= The Weschler Memory Scale; yrs= years.

\* p<0.05 after FDR correction.

Post-hoc tests of pair-wise differences: § aMCI – HCs, † MDD – aMCI

### Supplementary Material References

1. Watanabe T, Tan Z, Wang X, et al. Magnetic resonance imaging of noradrenergic neurons. *Brain Struct Funct* 2019;224:1609–25.
2. Langley J, Huddleston DE, Chen X, et al. A multicontrast approach for comprehensive imaging of substantia nigra. *Neuroimage* 2015;112:7–13.







# Discusión

---



## 6. Discusión

En esta sección se resumen los principales hallazgos de los estudios incluidos en esta tesis y se presenta una discusión general de los mismos. También se incluye una aproximación a sus implicaciones para la investigación futura en procesos neurodegenerativos y TNCs y la identificación de dianas para el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos, preventivos y de tratamiento. Por último, se presentan las limitaciones generales de estos estudios.

### 6.1. Resumen de los principales hallazgos

En la presente tesis **se han investigado las alteraciones funcionales subyacentes al proceso neurodegenerativo en poblaciones con riesgo de desarrollar un TNC mayor**, concretamente en familiares de primer grado de pacientes con EA, pacientes con TDM, e individuos con DCL, mediante técnicas de resonancia magnética funcional. Basándonos en la literatura previa, la primera parte de los análisis de los estudios incluidos en esta tesis se centraron en la región de la protuberancia dorsal del tronco encefálico. Este es el primer el lugar en el que se aprecian los cambios metabólicos y estructurales relacionados con el proceso neurodegenerativo propio de un TNC mayor, en su forma más común, la EA (211). El estudio de los cambios funcionales en estadios previos a la EA o en aquellos individuos con un riesgo incrementado de desarrollarla es, sin duda, necesario para determinar si la imagen por RM tiene la potencialidad de identificar biomarcadores de neuroimagen en fases premórbidas o etapas tempranas de la enfermedad. De este modo, en ambos estudios caracterizamos la CF del LC para indagar en las posibles alteraciones en la conectividad entre este núcleo y el resto de áreas cerebrales y determinar si esta es una información de la que pudiera derivarse algún biomarcador de interés. Por último, estudiamos las relaciones entre los resultados de neuroimagen y otras variables clínicas y neuropsicológicas recogidas de

los participantes en los estudios, lo que nos ayudó a caracterizar, contextualizar e interpretar los hallazgos de neuroimagen.

En nuestro primer estudio investigamos los posibles déficits clínicos y neuropsicológicos y la conectividad funcional intrínseca de la región del tronco del encéfalo en estado de reposo en individuos cognitivamente preservados con historia familiar directa de EA. La finalidad de este planteamiento era detectar posibles signos que permitan, eventualmente, una detección precoz de las alteraciones propias de la EA en individuos sin síntomas clínicos de deterioro mediante una secuencia funcional rápida no modulada por ningún tipo de tarea cognitiva. En este grupo de familiares directos encontramos que, a pesar de que mostraban diferencias significativas en algunas de las medidas neurocognitivas con el grupo de CS, estas puntuaciones no se encontraban en el rango patológico. Además, descubrimos que, en este estadio, en el que aún no existe sospecha clínica de TNC, aparecen alteraciones funcionales en la región de la protuberancia dorsal. Específicamente, en comparación con individuos sin historia parental de EA, **los H-EAIT mostraron una disminución significativa de la conectividad global del LC con el resto del encéfalo**. Este patrón de conectividad se relacionó, en el total de la muestra, con síntomas subclínicos de depresión. Al caracterizar la conectividad del LC, encontramos que **los H-EAIT exhibían un patrón de decremento de la conectividad entre el LC y distintos clústeres del cerebelo posterior**, como el Crus I bilateral, y los lóbulos VI y IX del hemisferio izquierdo. Tanto los H-EAIT como los CS mostraron una **asociación positiva entre la conectividad entre el LC y el cerebelo posterior y medidas de memoria**, apoyando la implicación de este circuito en la función mnésica. Estos resultados apoyan la evidencia previa sobre la presencia de cambios fisiopatológicos en el LC en individuos asintomáticos y el riesgo incrementado de los familiares de primer grado de pacientes con EA a sufrir alteraciones que puedan condicionar el desarrollo de un cuadro de TNC mayor. Asimismo, estos resultados destacan también que la conectividad funcional entre el LC y el cerebelo es de crítica importancia para los procesos de aprendizaje y memoria.

Tras la obtención de estos resultados en una población en riesgo de desarrollar EA, decidimos estudiar la conectividad funcional en grupos cuyos cuadros clínicos se han identificado como posibles estadios premórbidos o manifestaciones precoces de la enfermedad. En el segundo trabajo incluido en esta tesis, nos centramos en estudiar la conectividad funcional de la misma región del tronco del encéfalo pero centrándonos en pacientes con TDM de edad avanzada e individuos con DCL de tipo amnésico. En este estudio, sin embargo, utilizamos una tarea atencional de *oddball* visual que ha sido ampliamente estudiada y relacionada con la activación de las neuronas del LC (484). Estudios previos han señalado que tanto en TDM como en DCL existe un exceso de pérdida de neuronas en el LC, y, por ello, utilizar una tarea que implica de manera directa al LC nos había de permitir extraer una señal más precisa de la funcionalidad de este núcleo con el fin de poder establecer comparaciones más precisas entre los grupos clínicos y entre estos y los CS. Concretamente, analizamos la señal de cada vóxel extraída tras la presentación de los estímulos *oddball* o diana (cuando el LC debe presentar una actividad fásica) y la comparamos a la de los estímulos estándar (actividad tónica esperada), con el fin de maximizar la relación señal-ruido. Encontramos que el grupo que se diferenciaba de los otros dos por mostrar una **conectividad global significativamente menor en el LC ante estímulos *oddball*** era el compuesto por **pacientes depresivos**. Ningún otro núcleo del tronco del encéfalo mostró diferencias entre los grupos. En un segundo análisis, caracterizamos la conectividad entre el LC y el resto del cerebro, y encontramos que en los TDM existía una **disminución de la conectividad entre el LC y la CCA, el GF y distintos clústeres cerebelares (lóbulo VIII del vermis, y lóbulos III, VIII y IX del hemisferio derecho) ante los estímulos *oddball***. Concretamente, aquellos **TDM con episodio activo mostraron valores de conectividad entre el LC y la CCA más bajos en comparación con aquellos TDM en remisión**. Igualmente, en este trabajo estudiamos distintas variables clínicas y neuropsicológicas, comparándolas entre los grupos del estudio y correlacionándolas con los datos de neuroimagen. Si bien hallamos diferencias

entre grupos en varias de estas variables, únicamente **las medidas de severidad de la depresión y carga de la enfermedad en el grupo de TDM mostraron correlaciones significativas (negativas) con la conectividad entre el LC y la CCA**. Todos estos resultados indican que los pacientes depresivos muestran cambios en el patrón de conectividad del LC frente a sujetos sin enfermedad, pero también en comparación con otro grupo clínico con riesgo incrementado de desarrollar un TNC.

En estos dos estudios pretendimos estudiar los cambios en la conectividad funcional del LC, primer núcleo en el que aparecen algunos cambios fisiopatológicos propios de la EA, hallando patrones de conectividad anormales en el grupo de hijos de enfermos de Alzheimer (H-EAIT) y en los pacientes con TDM de edad avanzada. Entre ambos estudios existen algunos resultados y puntos en común, pero también diferencias relevantes, que se discuten a continuación.

### 6.2. Alteraciones funcionales del LC en sujetos con un riesgo incrementado de desarrollar un TNC mayor

En los dos estudios de esta tesis encontramos que la conectividad global del **locus coeruleus** se encontraba disminuida en individuos con un riesgo incrementado de desarrollo de EA. El LC, como se comentaba en la introducción (ver Introducción, sección 1.7.3. *LC en estadios premórbidos*), es un núcleo noradrenérgico que tiene amplias conexiones con el resto del encéfalo. La evidencia respalda que los primeros cambios en la proteína tau, característicos de la EA, se producen en este pequeño núcleo troncoencefálico, el cual va presentando diversos signos de degeneración a lo largo del continuum del TNC. Estos cambios, de hecho, se iniciarían en estadios premórbidos, en individuos asintomáticos desde una edad temprana (39,211,354–369). La alta prevalencia de estos signos patológicos en el conjunto de los individuos con o sin síntomas de deterioro cognitivo no coincide, sin embargo, con los índices de prevalencia e incidencia de

TNCs, y es por ello que el estudio del LC desde otra perspectiva más allá de su puro estudio estructural y celular parece necesario para avanzar en el conocimiento de la evolución de los procesos neurodegenerativos.

Los estudios previos muestran que hijos de enfermos de Alzheimer (H-EAIT) presentan distintas alteraciones en estudios de neuroimagen, como una disminución de la sustancia gris en el LTM o la corteza frontoparietal, o un incremento de activación en la corteza frontotemporal (304,305,350). Además, mediante técnicas moleculares, se han hallado algunas alteraciones metabólicas y funcionales en el LC en estadios asintomáticos (494). Sin embargo, hasta la fecha, no existía ningún estudio centrado en los cambios funcionales del LC *in vivo* medidos con RMf, y nuestros resultados apoyan la evidencia previa en relación a un mal funcionamiento y alteración precoz del LC en H-EAIT asintomáticos.

En el caso del TDM, también se han realizado distintos estudios fisiológicos, histológicos y de neuroimagen estructural sobre la degeneración del LC, pero anteriormente no se había empleado una tarea *oddball* específica para estudiar y comparar la funcionalidad del LC entre grupos con un riesgo aumentado de desarrollar EA. Desde que se propusiera la hipótesis catecolaminérgica en relación al origen de los trastornos afectivos, con especial hincapié en la depresión mayor, el papel de la NA ha sido ampliamente investigado en esta población de sujetos (571,572). Los niveles de esta monoamina, de los metabolitos noradrenérgicos, su transportador y algunos de sus receptores se encuentran disminuidos en distintas regiones del cerebro de los pacientes con TDM (573–575). Además, los fármacos que disminuyen la disponibilidad de monoaminas provocan estados de ánimo bajos, y viceversa, aquellos que incrementan esta disponibilidad tienen un efecto antidepresivo (572,576). La implicación de la NA en procesos tan clásicamente afectados en los cuadros depresivos como el aprendizaje, la memoria, los ciclos de sueño, el *arousal* o la flexibilidad cognitiva también es indicativa de la disminución de este neurotransmisor a nivel central en los pacientes con TDM (576). Igual-

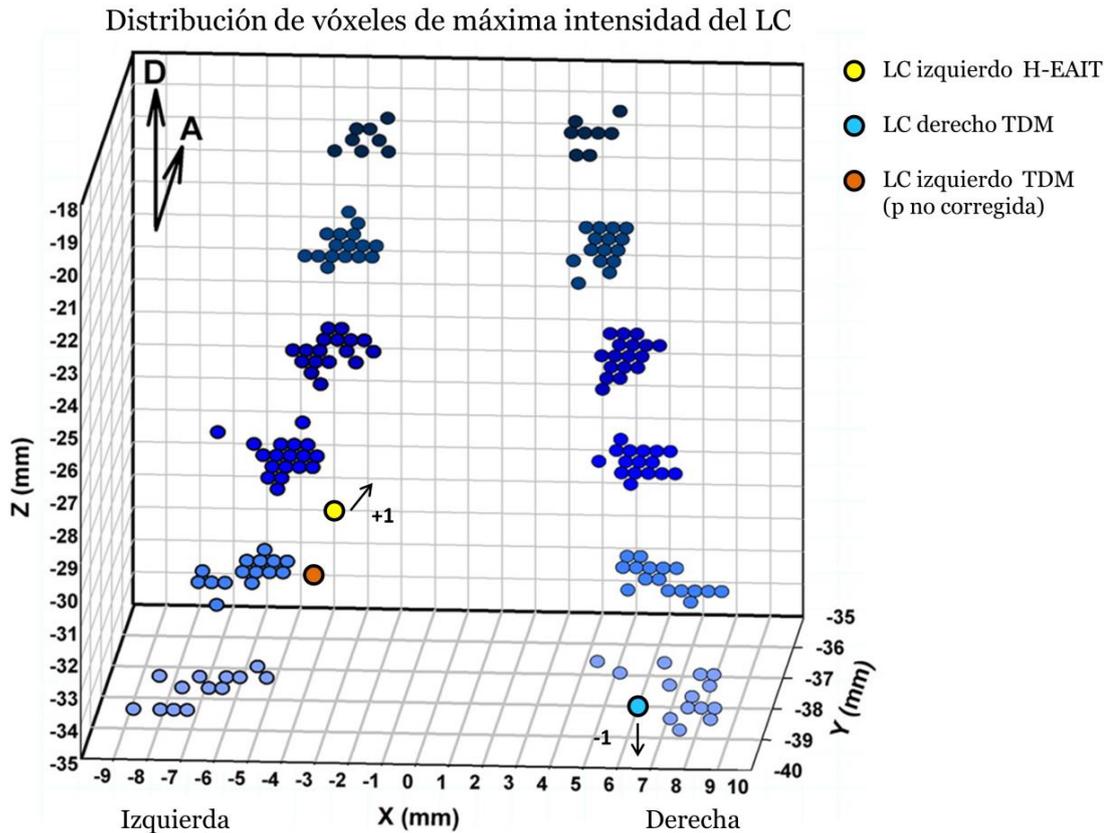
mente, diversas investigaciones han encontrado alteraciones en la actividad y conectividad del LC y en la función noradrenérgica en muestras de sujetos con TDM tras la administración de tratamientos que modulan la función noradrenérgica, como la ketamina o los inhibidores de la recaptación de NA y 5-HT (511,577). Concretamente, en estudios centrados en el LC de pacientes con TDM y en modelos animales de depresión se ha detectado que en este núcleo aparece muerte neuronal y degeneración de axones, alteraciones en factores de crecimiento, incrementos de niveles de tirosina hidroxilasa, alteración de la densidad de receptores adrenérgicos o reducción de niveles del transportador de NA y una pérdida de integridad estructural en imágenes de RM (491,502–508,510,576,578). La exposición al estrés, tan determinante en el desarrollo de muchos casos de depresión, induce también una disminución en la disponibilidad de NA y un incremento de tirosina hidroxilasa en el LC (579).

Todos estos datos, junto con la disminución de la conectividad global del LC en los pacientes con TDM y la asociación entre la disminución de esta CF del LC y mayores síntomas depresivos en CS y H-EAIT en el primer estudio de esta tesis, parecen apoyar el papel relevante de este núcleo en el desarrollo de depresión mayor y la severidad de sus síntomas. De igual forma, en el total de la muestra del primer estudio también encontramos una asociación positiva entre la conectividad global del LC y el deterioro cognitivo medido con el MMSE, la puntuación total del test de memoria RAVLT y el recuerdo diferido de este mismo test. Estas correlaciones podrían estar indicando la implicación del LC y la NA en la regulación de procesos mnésicos y su papel en el deterioro global del individuo. Estos resultados también señalan que las alteraciones funcionales tempranas en el LC son medibles mediante técnicas de RMf, y que estos métodos pueden constituir, eventualmente, un marcador fiable para la detección precoz de procesos neurodegenerativos.

Las coordenadas estereotáxicas en las que observamos la disminución de CF en H-EAIT y TDM en ambos estudios se diferenciaron en su posición respecto a los ejes crá-

neo-caudal y transversal (ver **Figura 6**). Hay que tener en cuenta que a pesar de que los dos análisis se realizaron en un mismo espacio estereotáxico de referencia (MNI), la posición del LC y los mapas del LC pueden variar ligeramente entre sujetos y entre grupos de sujetos, como ya se ha comprobado en estudios previos (580). Teniendo pues en cuenta esta variabilidad individual y del conjunto de cada muestra, en lugar de escoger una *seed* o un mapa del LC desde el que estudiar la conectividad con el resto de regiones cerebrales, en ambos casos utilizamos una aproximación en la que en primer lugar estudiamos la conectividad global de la región del puente, para, de esta manera detectar donde se localizaban las alteraciones funcionales del LC para cada una de las muestras. Igualmente, tras obtener los resultados funcionales, estos fueron comparados con mapas de distribución anatómica del LC publicados por otros grupos (581) o con nuestros propios mapas estructurales obtenidos con una secuencia sensible a la neuromelanina.

La diferente media de edad entre ambas muestras (H-EAIT, media  $50.36 \pm 8.32$ ; TDM, media  $67.05 \pm 4.31$ ) puede haber influido igualmente en que los resultados del grupo de TDM se localicen en una coordenada más caudal por haber sufrido una mayor degeneración previa de la parte craneal medial que los H-EAIT, ya que existen cambios estructurales del LC dependientes de la edad de los sujetos (488). Además, se ha observado que en el LC existe una vulnerabilidad topográfica a la progresión de la degeneración, en la que las partes rostral y medial son más vulnerables a los cambios fisiopatológicos propios de la EA en comparación con el tercio más caudal (493). El estudio de la conectividad global de diferentes coordenadas a lo largo del LC y la comparación de sujetos H-EAIT y TDM podrían ayudar a dilucidar si a través de RMf se podría detectar esta vulnerabilidad topográficamente específica.



**Figura 6.** En este mapa de distribución de coordenadas de máxima intensidad del LC extraído de Keren et al., 2009 (581) están representados los resultados de disminución de la conectividad global del LC observados en los sujetos del grupo H-EAIT (**Estudio 1**;  $x = -4$ ,  $y = -34$ ,  $z = -32$ , círculo amarillo) y del grupo TDM (**Estudio 2**;  $x = 6$ ,  $y = -38$ ,  $z = -36$ , círculo azul; y el resultado del LC izquierdo en este grupo a un nivel de significación de  $p < 0.01$  sin corregir,  $x = -4$ ,  $y = -38$ ,  $z = -30$ , círculo naranja). El resultado del LC izquierdo de los H-EAIT está situado en una coordenada más ventral (Y) a las reflejadas en este mapa, y el resultado del LC derecho de los TDM se encuentra una coordenada más caudal (Z) a las recogidas en el mapa. A= eje dorso-ventral, D= eje rostrocaudal.

### 6.3. Patrones de conectividad con el LC alterados en sujetos con mayor riesgo de desarrollar un TNC mayor

Los grupos que mostraron una conectividad global del LC disminuida, H-EAIT y TDM, exhibieron patrones de menor conectividad entre el LC y distintas áreas del cerebro, especialmente pertenecientes a su lóbulo posterior (ver **Figura 7**). A pesar de que las proyecciones del LC hacia regiones corticales y subcorticales se distribuye a lo largo de todo el núcleo, la región caudal, donde obtenemos los resultados de nuestros estu-

dios, muestra una gran densidad de aferencias hacia el **cerebelo** (450,582). La CF entre el LC y el cerebelo ha sido estudiada y relacionada con procesos de orientación de la atención y respuestas sensoriomotoras a estímulos salientes para el individuo, así como con alteraciones del estado de *arousal* y regulación del aprendizaje y la memoria por la acción moduladora de la NA sobre las neuronas de Purkinje, actuando sobre los procesos de plasticidad sináptica (516,583–585).

En el curso neurodegenerativo de la EA, en comparación con otras regiones encefálicas, el cerebelo se ha mostrado como un área poco vulnerable al *seeding* y la propagación de tau anormal desde el LC. Igualmente, en el cerebelo, los ONFs y las placas de A $\beta$  se observan muy tardíamente en el curso degenerativo de la EAIT (117,586), aunque se han descrito reducciones en el número de células de Purkinje y gliosis de la capa molecular en estadios no tan tardíos de la EA (587), posiblemente como consecuencia de mecanismos patológicos diferentes a los de las placas y los ovillos neurofibrilares. El lóbulo posterior del cerebelo y la vermis están implicados en funciones cognitivas, y están muy conectados con distintas regiones involucradas en estos procesos como el lóbulo prefrontal, la región parahipocampal o el córtex cingulado (588–590). La disminución de la conectividad entre el LC y las partes más posteriores del cerebelo supondría pues una menor disponibilidad de NA y por consiguiente problemas a su vez en la conectividad con estas áreas cerebrales, con la resultante afectación de las funciones cognitivas que de ellas dependen.

Centrándonos en las regiones en las que observamos una disminución de la CF con el LC en nuestro primer estudio, y a nivel de redes corticales, encontramos que el **lóbulo IX** se ha relacionado con la DMN, mientras que el **Crus I** está relacionado con la ECN, y el **lóbulo VI** con la SN (591). Los pacientes de EA muestran alteraciones en estas tres redes, que a su vez están moduladas por el LC (ver *Introducción, 1.6. Neuroimagen en TNC y estadios premórbidos* y *1.7.4. Neuroimagen del LC y TNC*). Los resultados de nuestro primer estudio, en el que observamos una disminución de la conec-

tividad en el grupo H-EAIT entre el LC y el Crus I bilateral, y los lóbulos VI y IX izquierdos, podría ser indicativo de la importancia de la conectividad LC-cerebelo posterior en la modulación de estas diferentes redes, observándose una afectación precoz de las mismas en fases tempranas del *continuum* neurodegenerativo. Además, la asociación positiva de la conectividad LC – cerebelo posterior con puntuaciones de memoria en ambos grupos del estudio sustentaría la implicación del LC y la NA en la regulación de estas redes y el papel del cerebelo en funciones cognitivas como la memoria.

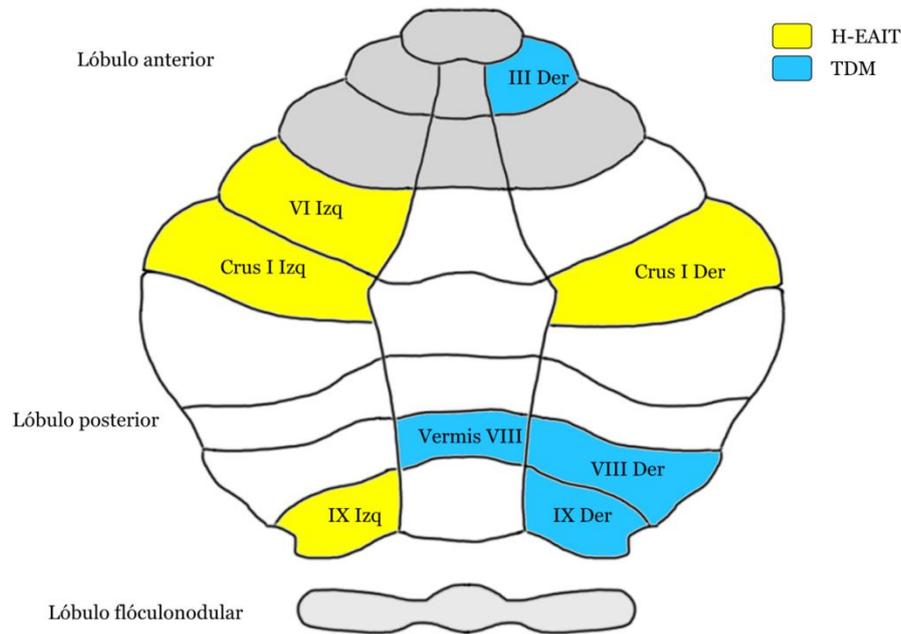
Al igual que los H-EAIT, los pacientes con TDM de nuestro segundo estudio también presentaron una disminución de la conectividad entre el LC y el lóbulo IX del cerebelo, en este caso ante la detección de estímulos *oddball*, que podría igualmente estar indicando un déficit en la modulación del LC sobre la DMN de estos pacientes. En estado de reposo, los pacientes depresivos muestran una hiperconectividad de la DMN, especialmente implicando la CCA, el tálamo y el precúneo (592,593). Este aumento de la conectividad en la DMN en estado de reposo se ha asociado con la inhabilidad de estos pacientes para alejar el foco de atención de su estado interno emocional y cognitivo. Sin embargo, se ha reportado una disminución de la conectividad de la DMN ante tareas de percepción de emociones y visualización pasiva y reevaluación de imágenes negativas (594). La alteración de la conectividad entre el LC y el lóbulo IX, evidenciada aquí ante la detección de estímulos *oddball*, podría estar contribuyendo a la desregulación de la DMN en pacientes depresivos.

Además, estos pacientes con TDM también exhibieron una disminución de la conectividad entre el LC y el **lóbulo VIII del vermis**. Este lóbulo está situado en la región posterior del vermis, área que ha sido denominada como el “cerebelo límbico”. La vermis posterior está implicada en el procesamiento emocional y cuenta con importantes proyecciones hacia estructuras límbicas cerebrales, como la CCA, la amígdala, el hipocampo, el hipotálamo o el giro dentado (595–598). Las malformaciones y las lesiones en el vermis posterior se han asociado con trastornos afectivos y la aparición de sínto-

mas depresivos (591,599,600). La alteración de la conectividad entre el LC y el vermis posterior en TDM podría estar indicando una posible contribución en la desregulación de este sistema y en la presencia de la sintomatología emocional y afectiva de estos pacientes.

Otro de los patrones de conectividad que encontramos disminuidos fue entre el LC y el **lóbulo VIII** cerebelar derecho. Esta región está implicada en procesos de memoria de trabajo y evocación de palabras (588,601,602). Igualmente, tanto el lóbulo VIII como el **III**, con el que también encontramos una menor conectividad con el LC en este grupo, juegan un papel importante en la regulación sensoriomotora (602). Los problemas en este sistema sensoriomotor en los pacientes depresivos han sido clásicamente descritos, apuntando a un enlentecimiento motor, problemas de procesamiento sensorial (p. ej. gusto u olfato) y comorbilidades asociadas con alteraciones en el *sensorimotor gating* o la regulación sensoriomotora (603–605). Se ha comprobado que el tratamiento con reboxetina (inhibidor selectivo de la recaptación de NA) mejora algunos de estos síntomas sensoriomotores en depresión, mientras que aquellos sujetos tratados con citalopram (inhibidor selectivo de la recaptación de 5-HT) no mostraban esta mejoría (603). El estudio de estos circuitos alterados, entre el LC y los lóbulos VIII y III, en pacientes con TDM, podría ayudarnos en futuros estudios a caracterizar con detalle el papel del sistema noradrenérgico en la modulación sensoriomotora en pacientes con depresión en edades avanzadas.

Por último, es importante decir que a pesar de que comparando los dos estudios las alteraciones de conectividad con el LC aparecieron mayoritariamente en hemisferios cerebelares opuestos, esto sea posiblemente debido a que la mayoría de conexiones estructurales que parten del LC hacia el cerebelo, al igual que hacia otras regiones cerebrales corticales y subcorticales, son ipsilaterales (606–609), y las regiones del LC que mostraron alteraciones aparecieron en hemisferios opuestos al comparar los dos estudios.



**Figura 7.** En esta vista simplificada del cerebelo y sus diferentes lóbulos se pueden observar las regiones cerebelares en las que se observó una disminución de la conectividad con el LC en los H-EAIT (en amarillo) y en TDM (en azul). Izq = Izquierdo, Der = Derecho. Figura adaptada de Depping et al., 2018 (610).

Además de las alteraciones en la conectividad entre el LC y el cerebelo en ambos estudios de esta tesis en los grupos de H-EAIT y de TDM, los pacientes depresivos mostraron una menor conectividad entre el LC y el **giro fusiforme (GF)** en comparación con los CS. Esta estructura se ha relacionado con el procesamiento de estímulos *oddball* tanto neutrales como emocionales (611–613), y en TDM y en pacientes con EA y síntomas depresivos se han reportado alteraciones en la activación del GF en estado de reposo (614,615). Esta región se ha relacionado con una hiperreactividad a distractores durante tareas de *oddball* visual en pacientes con TDM, lo cual perjudica la ejecución de la tarea. Sin embargo, al administrar bupropion (antidepresivo con efecto inhibidor de DA y NA), la hiperreactividad a los distractores es modulada consiguiendo un mejor rendimiento en la tarea *oddball* (616). La menor conectividad entre el LC y el GF ante estímulos *oddball* en nuestro estudio parece ir a favor del argumento que aboga por la importancia de esta región del lóbulo temporal ante distractores, una acción po-

siblemente mediada por la actividad noradrenérgica en relación a la regulación del ratio señal-ruido (617).

Finalmente, observamos que ante la presentación de los estímulos *oddball*, los TDM mostraron una menor conectividad entre el LC y el **córtex cingulado anterior**. Esta ha sido una región ampliamente estudiada en procesos depresivos y se han reportado alteraciones tanto funcionales como estructurales en este tipo de población. En aquellos pacientes depresivos con un debut tardío de la enfermedad se ha observado un menor grosor cortical y atrofia en la CCA en comparación con aquellos con un debut más temprano y los CS (618–620). Además, los pacientes con depresión mayor unipolar, en comparación con sujetos bipolares, muestran reducciones de la activación de la CCA frente a estímulos emocionales (621). Las conexiones anatómicas entre el LC y la CCA han sido ampliamente estudiadas, y entre ambas estructuras existe una gran densidad de proyecciones tanto ascendentes como descendentes, señalándose esta relación entre ambas como un substrato neurobiológico fundamental en los procesos de atención sostenida, ya que el LC provee de NA a la CCA durante los periodos de *arousal* elevado y de atención selectiva (447,622,623). Además de la implicación de la CCA en la DMN, discutida anteriormente, esta región conforma uno de los nodos más importantes de la SN, interviniendo en la detección de estímulos salientes y en el procesamiento de información de valencia negativa, como por ejemplo los errores durante la ejecución de una tarea. Igualmente, la activación de esta región responde a la dificultad de la tarea que se presenta y a los conflictos en el procesamiento de la misma (485,624–626). La respuesta que la CCA emite tras estos procesos sirve como un indicador del ratio coste-beneficio y guía la conducta del individuo frente a esa tarea (447). Grosso modo, tras percibir las señales provocadas por la tarea actual, se genera un resultado de un proceso de decisión que se basa en la utilidad que supone para el individuo invertir recursos atencionales en esa tarea. Si se valora que el grado de utilidad es adecuado, se genera un cambio en la actividad del LC, desde el modo de activación tónica a fásica. Posteriormente, cuando la utilidad de la tarea disminuye lo suficiente durante un periodo de

tiempo prolongado, la actividad del LC vuelve hacia un modo de actividad tónico, favoreciendo las conductas de exploración del individuo (447). La menor conectividad entre el LC y la CCA que mostraron los pacientes con TDM en respuesta a la presentación de estímulos *oddball* nos indica que existe una alteración en el sistema noradrenérgico de estos pacientes que puede conllevar anomalías en el cambio de los modos de actividad del LC y en la modulación de la actividad entre ambas estructuras que permite responder a los estímulos salientes.

Asimismo, **la baja conectividad entre el LC y la CCA se asoció negativamente con la severidad del trastorno depresivo**, concretamente con los valores de severidad de la GDS y con el número de episodios depresivos. Este resultado, junto con la evidencia anterior, podría indicar que el proceso atencional de valoración de costes y beneficios puede estar influido por la severidad de los síntomas y por la carga de enfermedad. De hecho, la correlación entre la conectividad del LC y la CCA y la puntuación en el GDS resultó ser producto de la diferencia entre dos grupos de pacientes: aquellos con un episodio activo de depresión y aquellos en remisión. La alteración de la conectividad entre LC y CCA caracteriza a los pacientes con TDM en edad avanzada frente a individuos con DCL y CS, y además supone un marcador de estado en estos pacientes depresivos.

### 5.4. Discusión general e implicaciones para la investigación futura

Tras la realización de los estudios incluidos en esta tesis, encontramos que la conectividad global del LC se encuentra alterada en algunos grupos de individuos en riesgo de desarrollar un TNC mayor, los H-EAIT y los sujetos con TDM de edad avanzada. Sin embargo, **esperábamos encontrar también alteraciones en los individuos con DCL**. Distintos argumentos podrían explicar por qué no encontramos diferencias

entre este grupo y los CS: 1) Algunos de los individuos con DCL incluidos en este estudio podrían no corresponder al porcentaje de casos con DCL que progresan hacia un TNC mayor tipo EA y que se adaptan al modelo de neurodegeneración descrito por Braak y Braak en el que el LC es la primera región afectada. El seguimiento y un estudio longitudinal nos ayudaría a determinar el número de casos de nuestro grupo de DCL que evolucionan hacia un TNC mayor debido a EA o, por el contrario, que no siguen el curso normativo de la EA y bien presentan otros TNC (demencia frontotemporal, TNC por cuerpos de Lewy, etc.) o se mantienen estables en el tiempo sin progresar hacia un cuadro degenerativo mayor. 2) Otro posible hecho influyente en nuestros resultados podría constituirlo el hecho que los pacientes con TDM se encuentren en un estado más avanzado del proceso neurodegenerativo o más próximo al TNC mayor, bien porque los síntomas cognitivos y las alteraciones noradrenérgicas son consecuencia del propio cuadro depresivo y su curso, o porque la depresión sea la manifestación temprana de una alteración severa del sistema de NA y de un TNC ya establecido. 3) Una tercera posibilidad podría ser que el LC de los DCL se encuentre deteriorado estructural y funcionalmente, pero que ante una tarea de *oddball* exista un sobreesfuerzo (mecanismo compensatorio) con el que todavía la conectividad de este núcleo se mantenga preservada.

En la literatura previa, encontramos que en estudios estructurales se ha observado una pérdida neuronal en el LC de entorno al 30% en sujetos con DCL-a, mientras que en el caso de sujetos depresivos sin síntomas de demencia la pérdida puede llegar a suponer hasta el 55%, y en pacientes en estadios avanzados de EA llegaría al 70% (365,379,492). Además, los pacientes de EA con TDM muestran un menor número de neuronas en el LC en comparación a aquellos EA sin síntomas depresivos (363,373). Estos datos de estudios previos apuntan a un importante papel del TDM y los síntomas depresivos en el TNC, y podríamos pensar que los pacientes con TDM se acercan más que los del grupo DCL a la fase en la que ya está establecida la EA.

Cuando **el LC es estudiado desde un punto de vista funcional**, tanto en nuestros estudios como en trabajos anteriores, encontramos que **estos hallazgos parecen estar de acuerdo con aquellos visualizados mediante las técnicas de cuantificación estructural o histopatológicos**. En individuos asintomáticos se han descrito distintas alteraciones metabólicas en el LC (494), y en nuestro trabajo encontramos que los sujetos sanos con historia familiar de EA mostraban alteraciones de conectividad funcional entre el LC y el cerebelo. Estudios previos han mostrado también que durante el estado de reposo los individuos con DCL muestran alteraciones en la conectividad entre el LC y el giro fusiforme, el cerebelo bilateral, el giro parahipocampal, la amígdala y otras regiones del LTM (474). Además, en este mismo estudio encontraron una correlación positiva entre la conectividad del LC con el parahipocampo y las puntuaciones totales de memoria y recuerdo diferido. En los H-EAIT de nuestro trabajo encontramos igualmente asociaciones positivas entre la conectividad LC - cerebelo posterior y puntuaciones de recuerdo diferido. Por lo tanto, parece que al evaluar la **conectividad del LC en una tarea en estado de reposo** en población en riesgo de desarrollo de procesos neurodegenerativos, como los H-EAIT o los DCL-a, se evidencian las **alteraciones de la conectividad del LC con áreas relacionadas con procesos cognitivos y mnésicos**, que a su vez se asocian con medidas de memoria.

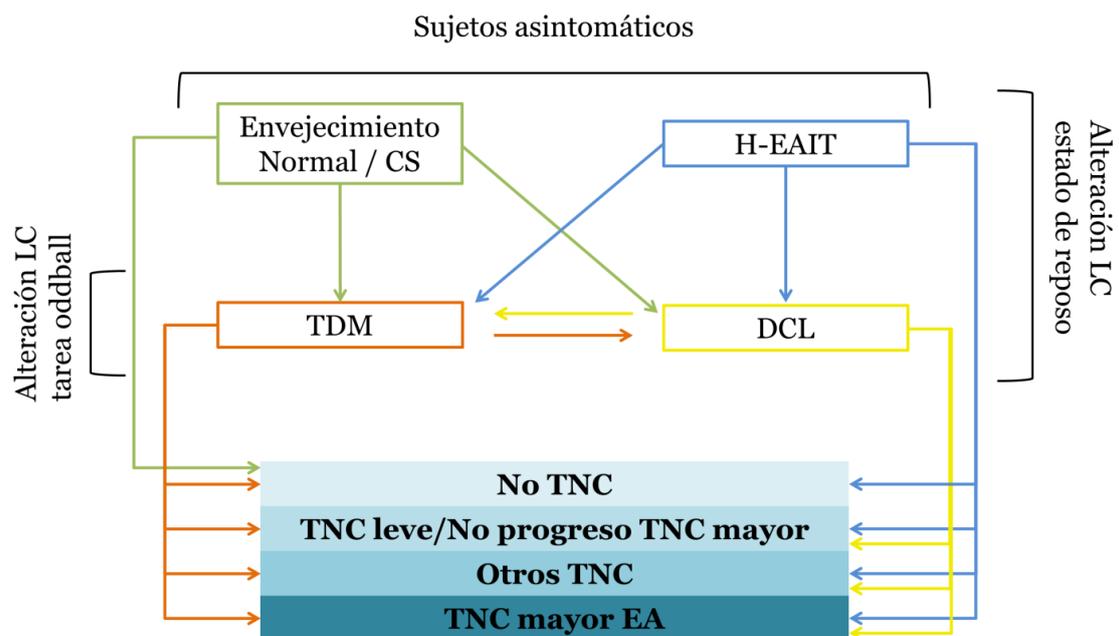
En cambio, **al evaluar el funcionamiento del LC ante una tarea cognitiva**, en nuestro caso una tarea de *oddball* visual, no encontramos en el grupo de DCL ninguna alteración en la conectividad del LC con otras regiones cerebrales, aunque vemos que **la conectividad de los TDM se encuentra disminuida** en comparación con los otros dos grupos. En estudios en los que se ha evaluado el efecto de tareas que promueven la actividad del LC y que se asocian a la dilatación pupilar, se han encontrado mayores niveles de dilatación pupilar en pacientes con DCL-a (532). Este hecho podría estar indicando una baja adaptación del LC a la tarea y un esfuerzo compensatorio por parte de este núcleo con el fin de alcanzar niveles adecuados de desempeño de la tarea presentada. Este mecanismo de compensación funcional podría explicar por qué al pre-

sentar una tarea *oddball* en nuestro segundo estudio no encontramos alteraciones funcionales en el LC de los pacientes con DCL. Con respecto a la ejecución de la tarea, en este trabajo lo que encontramos fue que en la tarea *oddball* los TDM y los DCL presentaron tiempos de reacción similares en respuesta a los estímulos *oddball*, que en ambos casos fueron mayores que los observados en el grupo de CS. Igualmente, ambos grupos clínicos mostraron una media de errores de omisión parecida, también mayor a la de los CS. Sin embargo, los DCL cometieron más errores de comisión con respecto a los CS pero también respecto a los TDM. El mecanismo funcional compensatorio podría estar influyendo en que aparezca una actividad tónica más elevada ante la presentación de la tarea que podría conllevar a una menor capacidad de inhibición y mayor número de errores de comisión. Esta actividad tónica anormalmente elevada en el LC ya ha sido descrita en pacientes con DCL y ha sido asociada con las alteraciones en la regulación pupilar en este tipo de pacientes (533). Con esta evidencia, podríamos plantearnos que **puede existir un estadiaje del proceso neurodegenerativo en el que encontraríamos a los H-EAIT y a los DCL-a en una fase del proceso neurodegenerativo previo a los TDM.** Este argumento también estaría apoyado por el hecho de que tanto los pacientes con EA como los individuos con DCL que presentan síntomas depresivos muestran una mayor captación de A $\beta$  en PET amiloide *in vivo*, y mayor formación de placas seniles y ONFs en estudios *post mortem* (231,269,270). Los síntomas depresivos o el cuadro de depresión mayor podrían constituir así una manifestación temprana de la EA ya establecida, o al menos contribuir a un declive mayor y/o más acelerado que en aquellos casos en los que estos síntomas no aparecen.

Con el fin de comprobar esta hipótesis explicativa en la que podríamos encontrarnos cambios en la funcionalidad en los estadios más iniciales en RMf en estado de reposo y alteraciones ante tareas cognitivas, como por ejemplo la tarea *oddball*, en estadios más avanzados, sería interesante comparar en un mismo estudio distintos grupos: H-EAIT, TDM, DCL-a y EA (con y sin síntomas depresivos) con el fin de definir si estas diferen-

tes entidades podrían colocarse en un mismo eje cronológico de manera más o menos lineal, como se ya se ha propuesto con el continuum normalidad – DCL – EA (180).

**Otra posible explicación** al conjunto de los resultados de esta tesis y a la literatura previa **podría ser que las distintas entidades respondan a patrones de evolución del proceso neurodegenerativo diferentes y que no necesariamente se encuentren en una misma ruta de neurodegeneración**, a pesar de que todos estos grupos presenten tasas de incidencia de TNC mayor altas y alteraciones funcionales en el LC. En este caso, los distintos cursos podrían seguir evoluciones paralelas que podrían entrecruzarse o no a lo largo del progreso neurodegenerativo (**Figura 8**).



**Figura 8.** Representación esquemática del posible modelo explicativo de la evolución del proceso neurodegenerativo basado en los cambios encontrados en los trabajos de esta tesis y la evidencia previa. Esta hipótesis recoge las posibles interacciones entre las distintas fases del proceso y el curso de las mismas. Los datos de integridad estructural del LC, junto con los de RMf y pupilometría, sugieren que la integridad de este núcleo estaría más preservada en los CS, seguidos por los H-EAIT asintomáticos, los DCL y por último los TDM. A lo largo de la vida de cada individuo, el curso puede variar, desarrollando síntomas depresivos, deterioro cognitivo leve, TNC mayor, etc. Los sujetos de estos grupos no tienen que progresar necesariamente hacia un TNC mayor debido a EA, sino que pueden estancarse en un TNC leve, desarrollar otro tipo de TNC o nunca desarrollar un TNC. Los grupos con menores probabilidades de desarrollar un TNC se encuentra en la parte superior de la figura (con colores más fríos), mientras que los grupos con altas tasas de incidencia de TNC (DCLs y TDMs) se encuentran en una segunda fila (con colores más cálidos).

En este modelo, cada uno de los factores de riesgo podría tener un peso específico y mediante la combinación de ellos podría llegarse a diferentes subtipos de TNC mayor con pronósticos y tratamientos diferentes. La detección de alteraciones funcionales en el LC y las características y síntomas de los individuos en los que encontramos estos cambios podrían ayudarnos a discernir la presencia de un proceso neurodegenerativo en curso. Con este objetivo, sería útil desarrollar algunas investigaciones que nos ayuden a comprender mejor este proceso neurodegenerativo y el papel de la conectividad del LC y su posible utilidad como biomarcador precoz en el curso del TNC:

- La conectividad y actividad del LC podría ser estudiada, como decíamos previamente, de manera comparativa entre diferentes grupos (H-EAIT, DCL, TDM, EA). Incluir grupos con TNC mayor nos brindaría la posibilidad de evaluar las alteraciones de conectividad del LC en diferentes estadios del proceso neurodegenerativo.
- Podríamos además diferenciar si los patrones de alteración de conectividad entre el LC y regiones específicas son acumulativos y debidos a la carga de la neurodegeneración (LC-cerebelo posterior en H-EAIT vs. LC-cerebelo posterior + CCA + GF en TDM) o bien si estos patrones son característicos de subtipos específicos de TNC (p.ej. alteración LC-CCA y GF en TNC con síntomas depresivos). Quizás la implicación de la NA en la depresión conlleva la degeneración del LC y un futuro desarrollo del TNC, lo que explicaría la asociación que obtenemos entre la conectividad del LC – CCA y el número de episodios depresivos; o bien que las alteraciones del LC provoquen los episodios depresivos a lo largo de la edad adulta y avanzada. La indagación en estos mecanismos y en las posibles relaciones causales podrían ayudarnos a entender este proceso más claramente.
- El estudio de la conectividad global de diferentes coordenadas a lo largo del eje del LC y la conectividad entre cada una de estas coordenadas y el resto del cerebro, así como la comparación de estos análisis entre los grupos, podría ayudarnos a descu-

brir si podemos medir la vulnerabilidad topográfica al proceso neurodegenerativo en distintas regiones del LC con RMf y en cada uno de los grupos, si la conectividad de cada zona del LC presenta asociaciones con regiones cerebrales distintas, y si estas caracterizan diferentes estadios del proceso neurodegenerativo.

- Un punto interesante podría ser la comparación de los patrones de actividad y conectividad del LC en secuencias en estado de reposo y ante tareas cognitivas, como la tarea de *oddball*, entre los distintos grupos. Las posibles diferencias existentes entre la utilización de estímulos neutros y emocionales en esta tarea podrían ser investigadas con el fin de determinar si el tipo de estímulo podría ser de ayuda para realizar predicciones del curso neurodegenerativo por las posibles interacciones con síntomas depresivos, por ejemplo.
- Complementar la información de los datos de neuroimagen funcional durante la tarea *oddball* con la correlación de datos de pupilometría podría aportarnos una mejor comprensión del estado funcional del LC en cada uno de los grupos y una medida más precisa de su actividad.
- La función del LC en otro tipo de tareas como aquellas relacionadas con memoria también podría aportarnos una mejor comprensión del funcionamiento de este núcleo en los distintos grupos del continuum de los TNCs, ya que estas se han visto asociadas con la alteración de la conectividad del LC en DCL (627), y además este es uno de los problemas característicos de los TNCs.
- Igualmente, disponer de información sobre biomarcadores de los sujetos estudiados ( $A\beta$ , tau total y tau fosforilada en LCR, PET FDG, PET amiloide y PET tau) con los que pudiéramos comparar las medidas de conectividad del LC nos ayudaría a llegar a conclusiones más precisas acerca de la utilidad de la RMf en la evaluación de la funcionalidad del LC como biomarcador en la detección precoz del proceso neurodegenerativo.

- El estudio longitudinal de estos sujetos podría aportarnos valiosa información con el fin de estudiar su evolución y descubrir si la disminución de la conectividad del LC podría servirnos como biomarcador temprano del proceso neurodegenerativo.
- Con el resultado de la evaluación de los distintos biomarcadores se podrían desarrollar modelos que nos permitieran otorgar distintos pesos a cada uno de los signos de neurodegeneración, incluyendo las alteraciones funcionales del LC, en la progresión de la enfermedad. Las cargas de cada uno de los signos característicos del proceso neurodegenerativo y los distintos síntomas del cuadro presente podrían articular distintos patrones de evolución, y ayudarnos a discernir como los diferentes cuadros y factores de riesgo, como el TDM, los síntomas depresivos o la historia familiar de EA, pueden influir en la rapidez de la progresión y su pronóstico.

Conocer el curso de los posibles subtipos de TNC, sus características y los factores de riesgo que los influyen nos permitiría evaluar de manera más precisa alteraciones muy tempranas como los cambios en la funcionalidad del LC mediante métodos no invasivos, como la RM. Esta visión se acerca a la medicina personalizada y podría ofrecernos la posibilidad de descubrir ventanas temporales tempranas en las que detectar los primeros signos de TNC con el fin de crear tratamientos y establecer pronósticos para cada paciente en función de sus características y la carga de enfermedad de manera precoz y más precisa.

### 5.5. Limitaciones

Los resultados obtenidos en los estudios de esta tesis deben ser considerados bajo el contexto de algunas limitaciones. Además de las limitaciones específicas de cada uno de los trabajos, descritas en detalle en los artículos, existen distintas limitaciones aplicables a los resultados de ambos estudios y a la interpretación conjunta de los mismos.

La comparación de los resultados de ambos trabajos debe realizarse de manera cautelosa por distintos motivos. En primer lugar, **las secuencias funcionales que se utilizaron en cada uno de ellos fueron distintas**. Así, en el primer estudio se analizaron los datos de una secuencia adquirida en estado de reposo, mientras que en el segundo trabajo se evaluó la conectividad del LC a lo largo de una tarea *oddball* visual. La actividad y la conectividad del LC en cada una de ellas se espera que sea diferente. La tarea *oddball* pretende inducir actividad neural en el LC, con fluctuaciones entre el estado de activación tónico y fásico, mientras que en estado de reposo se esperaría una actividad y unos patrones de conectividad relativamente constantes.

Además, **las características de las muestras incluidas** en cada uno de los estudios son diferentes. Más allá de los síntomas clínicos presentes en cada uno de los grupos de los trabajos, los participantes del Estudio 1 presentaron una media de edad más baja que aquellos del segundo estudio. A lo largo de la vida, la integridad del LC va modificándose, y la pérdida neuronal comienza a producirse en el curso normativo a partir de los 50 años (490). Por este motivo, esperaríamos que simplemente por la diferencia entre las medias de edad existieran diferencias en la funcionalidad del LC, y por ello la interpretación conjunta de estos trabajos debe realizarse de manera cautelosa.

Un tercer punto a tener en cuenta consiste en la **localización del LC** en cada uno de los estudios. Mientras que para la muestra del Estudio 2 disponíamos de un mapa del LC calculado a partir de nuestra propia muestra, obtenido mediante la adquisición de secuencias sensibles a neuromelanina, en el caso del primer trabajo no disponíamos de este tipo de secuencia. En este caso realizamos la localización de resultado basándonos en las coordenadas de un mapa del LC previamente publicado (581).

Finalmente, a pesar de que en ambos estudios encontramos asociaciones entre medidas de depresión y las disminuciones de la conectividad del LC, bien a nivel global o de manera más específica en la conectividad con la CCA, **los instrumentos utilizados para medir la presencia y severidad de los síntomas depresivos** varían

entre un trabajo y otro. Asimismo, en el primer estudio esta asociación apareció al realizar un análisis para el conjunto de la muestra, y en el segundo caso cuando nos centramos específicamente en el grupo de sujetos con TDM. Por estos motivos, la interpretación del papel modulador de la severidad de los síntomas depresivos sobre la conectividad del LC debe realizarse con prudencia. Investigaciones futuras serán sin duda de utilidad para discernir con detalle la relación entre síntomas depresivos, conectividad funcional del LC y riesgo de desarrollar un TNC. Igualmente, la realización de estudios longitudinales ha de permitir determinar con certeza qué papel juegan estos diferentes aspectos en el eventual desarrollo de un TNC mayor.







# Conclusiones

---



## 7. Conclusiones

### 7.1. Conclusiones

Los resultados de la presente tesis nos permiten profundizar y obtener información novedosa sobre la implicación del sistema noradrenérgico en la aparición del deterioro cognitivo y su asociación con los síntomas clínicos y neuropsicológicos de los individuos pertenecientes a grupos con un riesgo incrementado de desarrollar un TNC mayor. A continuación, se exponen las conclusiones de los trabajos presentados en esta tesis:

1. Existen alteraciones en el sistema noradrenérgico en descendientes directos de primer grado, sin patología, de pacientes con EA:
  - 1.1. La conectividad global del LC en estado de reposo en este grupo de sujetos se encuentra disminuida.
    - 1.1.1. Esta alteración de la conectividad funcional se encuentra inversamente asociada con la severidad de los síntomas depresivos en el total de la muestra.
  - 1.2. Esta disminución de conectividad global se refleja en una disminución específica de la conectividad entre el LC y el cerebelo posterior familiares de pacientes con EA.
    - 1.2.1. Tanto en familiares de pacientes con EA como en controles sanos, la conectividad entre LC y cerebelo posterior se asocia positivamente con medidas de recuerdo diferido.
2. En pacientes con TDM de edad avanzada aparecen alteraciones en el sistema noradrenérgico durante la ejecución de una tarea de *oddball* visual:
  - 2.1. Los sujetos con TDM muestran una menor conectividad global del LC durante la detección de estímulos salientes.

## Conclusiones

---

- 2.2. Los sujetos con TDM muestran una disminución específica de la conectividad del LC con la corteza cingulada anterior, el giro fusiforme y el cerebelo posterior ante los estímulos *oddball*.
  - 2.2.1. Aquellos TDM con episodio activo de depresión muestran una menor conectividad entre el LC y la corteza cingulada anterior que aquellos en remisión.
- 2.3. La conectividad entre el LC y la corteza cingulada anterior se asocia negativamente con medidas de severidad de los síntomas depresivos y de carga de enfermedad en el grupo de sujetos con TDM.
3. Nuestros hallazgos indican que la evaluación de la conectividad funcional del LC mediante técnicas de RMf puede ser un marcador útil para la detección de alteraciones tempranas del sistema noradrenérgico en procesos neurodegenerativos.
4. Las alteraciones funcionales del LC podrían reflejar e incluso predecir los cambios estructurales derivados de la acumulación de tau patológica y otras transformaciones metabólicas en distintos grupos en riesgo de desarrollar un TNC mayor.
5. La conectividad entre el LC y el cerebelo posterior podría estar jugando un importante papel en el deterioro de la función mnésica en los TNCs.
6. Las alteraciones de conectividad entre el LC y la corteza cingulada anterior podrían ser un marcador de estado depresivo ya que las mayores alteraciones en esta conectividad se observan durante episodios depresivos activos.
7. Los distintos grupos con riesgo incrementado de desarrollar un TNC mayor podrían formar parte de un mismo grupo de entidades cuyos cursos clínicos podrían relacionarse entre sí, y la evaluación del sistema noradrenérgico mediante RMf podría suponer un biomarcador temprano de degeneración funcional y, junto con el estudio de otras variables y biomarcadores, predecir la evolución del proceso neurodegenerativo.

---

## 7.2. Conclusions

The work in this thesis provides new knowledge and allows a deeper understanding of the role of the noradrenergic system in the appearance of cognitive impairment and its association with the clinical and neuropsychological symptoms in groups of individuals at increased risk of developing a neurocognitive disorder (NCD). We draw the following conclusions from the work presented in this thesis:

1. We found early alteration in the noradrenergic system of first-degree descendants, without pathology, of Alzheimer's disease (AD) patients:
  - 1.1. Global connectivity of the LC in offspring of late-onset AD (O-LOAD) patients is decreased in the resting state.
    - 1.1.1. This functional connectivity (FC) decrease is negatively associated with depressive symptoms at the whole sample level.
  - 1.2. Specifically, the FC between the LC and posterior cerebellum is diminished in O-LOAD individuals.
    - 1.2.1. Both in O-LOAD and healthy controls (HC), the connectivity between the LC and the posterior cerebellum is positively associated with delayed recall scores.
2. Patients with late-life major depressive disorder (MDD) show noradrenergic system alterations during the performance of a visual oddball task:
  - 2.1. MDD show a lower global connectivity in the LC during the detection of salient (oddball) stimuli.
  - 2.2. Depressive patients show a diminished connectivity between LC and the anterior cingulate cortex (ACC), fusiform gyrus (FG) and the posterior cerebellum in front of oddball stimuli.
    - 2.2.1. Patients with MDD in active depressive episode showed lower functional connectivity between the LC and the ACC in comparison to those in remission.

## Conclusiones

---

- 2.3. Functional connectivity between the LC and the ACC is negatively associated with measures of depressive symptom severity and disease burden in the MDD group.
3. Our findings suggest that the assessment of LC functional connectivity could eventually be a useful marker for the early detection of noradrenergic alterations in neurodegenerative processes.
4. LC functional connectivity alterations could reflect and even predict the structural changes consequence of the accumulation of pathologic tau and other metabolic transformations in different groups at increased risk for major NCD.
5. LC – posterior cerebellum connectivity could be playing a relevant role in mnemonic function impairments in NCDs.
6. LC-ACC functional connectivity could be a state marker of depression since they are more evident in patients with inactive depression episodes.
7. Groups at an increased risk for developing a major NCD could be part of the same pool of clinical entities, with related clinical courses. The evaluation of the noradrenergic system by means of functional magnetic resonance imaging could eventually provide early biomarkers of neurodegeneration and, together with the assessment of other variables and biomarkers, could predict the evolution of neurodegenerative processes.





# Thesis summary

---



## 8. Thesis summary

### 1. Introduction

#### 1.1. Neurocognitive disorders

Neurocognitive disorders (NCD) are a heterogeneous group of clinical entities that share as a principal hallmark impairment in all or some of the previously acquired individual cognitive and functional capacities (23). NCD are classified as different entities such as delirium, or major and mild NCD (23). Major and mild NCD are impairments with a long evolution and there are different subtypes attending to their etiologies: NCD due to Alzheimer's disease (AD), frontotemporal lobar degeneration, Lewy body disease, vascular, cranioencephalic traumatism, substance or medication abuse, HIV infection, prion diseases, Parkinson's or Huntington's diseases, or other medical conditions (23). NCD due to AD represents between 60-90% of total NCD cases and normally has an insidious onset with a gradual progression.

Neuropathological findings and clinical symptoms evolve in parallel, with biological changes appearing even decades before clinical manifestations (25). The two biological hallmarks of AD are the  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) plaques and hyperphosphorylated tau neurofibrillary tangles (NFTs) (103,104). Histopathological studies of cognitive preserved individual and through PET imaging have found accumulation of  $A\beta$  and NFTs, showing that after 30 years old all individuals present these neuropathological changes (39–41). This evidence points that  $A\beta$  and NFTs are not enough for the development of NCD and that other factors may be involved.

Some conditions have been signaled as risk factors in the development of NCD. The genetic component in AD is strong, concretely some apolipoprotein E (APOE) subtypes have been related to greater NCD conversion rates (42). Other at-risk groups are represented by amnesic mild cognitive individuals (aMCI) and late-life MDD, with high rates of major NCD incidence (88,90). Indeed, cognitive and neuropathological chang-

es are present in both the offspring of late-onset AD (O-LOAD), aMCI individuals and MDD patients (39,88,91,93,235,494). In these groups, structural and functional alterations similar to those observed in patients with AD have been observed using magnetic resonance imaging (MRI) (265,268,271–274,306,309,338–341,343).

### **1.2. Noradrenergic system and neurodegenerative process**

Neuropathological studies have shown that the locus coeruleus (LC) nucleus is the place where pathological changes start in the continuum of AD (211). This is the sole noradrenergic nucleus of the central nervous system (CNS) and has wide projections to cortical and subcortical structures (351–353). AD patients show massive neuronal loss in the LC, which is associated with the decrease of noradrenaline (NA) availability in other CNS regions, the severity and duration of the NCD, the degree of A $\beta$  plaques and the presence of different neuropsychiatric symptoms in these patients such as depression (354,361,362,370–372).

NA is related to different physiological processes such as the clearance of A $\beta$  plaques, neuroplasticity, neuronal damage and survival, neurotrophic factors, neurogenesis, neuroinflammation, energy metabolism, excitotoxicity or oxidative stress, all of which could be contributing to the pathogenesis of AD (409,411–413). This neurotransmitter plays an important role in signal detection, regulation of arousal levels, sensorial processing, modulation of alertness during wakefulness and sleep-wakefulness cycles, or attention, learning and memory processes (412,432,436,437,448,485). During the regulation of the sustained and selective attention, the LC acts as a filter directing the attention to salient stimuli for the individual and it plays an important role in the initiation and maintenance of appropriate behav-

ior through the control of functional networks with the NA release in cortical regions (380,437,449,477).

In early stages of AD and at-risk population, like MDD, aMCI or asymptomatic individuals, neuronal loss, tau protein or metabolic changes are present in the LC, along with less availability of NA in other CNS areas (379,492,494). Recently, with neuroimaging techniques, the structural quantification of LC has been assessed, and a lower structural integrity of LC in AD patients, MCI and MDD patients has been found (510,512). The reduction of the LC signal in structural MRI has been associated with high levels of A $\beta$  in cerebrospinal fluid (CSF) and lower memory values (513,514). The functional integrity of LC has been investigated through oddball and working memory tasks and pupillometry, which is related to LC activity, showing LC functional alterations in aMCI subjects (532,533).

### 1.3. Rationale for the studies

In the recent years, the number of NCD cases has exponentially increased and it is expected that in the following years this number will become even bigger (26). Currently, the biomarkers available for NCD diagnostic allow us to detect cases when the neurodegenerative process is already established and very advanced. Moreover, some individuals show positive values in these biomarkers, but they do not develop cognitive symptoms. Progress to the knowledge of early changes in the NCD continuum and new biomarkers is necessary in order to detect alterations before the pathology is too advanced to be treated, to predict the evolution of cases or to have temporal windows that allow us to investigate new treatments and prevention strategies.

Different works have studied LC neuropathological changes in histological and animal studies and with structural MRI. However there are few examples of investigation of LC functionality in early stages of NCD (532,533,537). The research of functional

alterations is of interest because it could help to elucidate the role of LC in the neurodegenerative process and develop a new marker with a non-invasive and rapid technique.

## 2. Hypothesis

**Study 1:** “Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer’s disease”

On the basis of the previous studies, we hypothesized that the LC would show functional connectivity (FC) alterations in the of O-LOAD individuals with regions with noradrenergic projections, and that these disrupted FC would be associated with cognitive impairment measures.

**Study 2:** “Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task”

Results of previous studies led us to hypothesize that MDD and aMCI individuals would show deficits in the performance of the oddball task. Moreover, these clinical groups would show functional alterations between the LC and other cerebral regions during oddball stimuli detection, and that neuroimaging results would be associated with performance of the oddball task and disorders severity measures. Finally, we anticipated that these alterations would discriminate between clinical groups.

## 3. Aims

The general aim of this thesis is to provide a better understanding of the functional neural correlates underpinning the neurodegenerative process in the brainstem in early phases of NCD. Using different modalities of functional MRI (fMRI) and analyzing clin-

ical and neuropsychological data, we intend to describe early functional alterations in the LC in at-risk AD population and their relationship with different cognitive and clinical measures.

**Study 1:** “Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer’s disease”

The specific aims of this study were:

- To compare the global FC patterns in a resting state sequence of the region of the brainstem in a sample of O-LOAD adults and a HC without parental AD history.
- To investigate FC specific patterns between brainstem region and the rest of the brain.
- To examine the possible associations between neuroimaging changes and clinical and neurocognitive variables.

**Study 2:** “Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task”

In this study the specific aims were:

- To evaluate the FC between the LC with the rest of cerebral areas during the presentation of a visual oddball task in late-life MDD patients, aMCI individuals and HC.
- To identify correlations between neuroimaging results and clinical and neuropsychological variables.
- To compare these measures between the clinical groups to evaluate if its alteration is associated with the alleged probability of developing a major NCD.

## 4. Methods

### 4.1. Participants

- **Study 1:** a total of 31 cognitively preserved O-LOAD and a group of 28 HC without familiar history of AD where recruited from the FLENI Foundation (Buenos Aires, Argentina). Inclusion criteria were to be more than 30 or less than 65 years old, at least 7 years of formal education, > 26 points in the Mini-Mental State Examination (MMSE), < 4 points in the Hachinski Ischemia Scale, no past or present neurologic or psychiatric illness or any contraindication for MRI assessment. All participants were assessed clinically and with a neuropsychological battery that included depression, cognitive screening, learning, memory, attention, executive functions or language measures.
- **Study 2:** 20 MDD patients, 16 aMCI individuals and 26 HC were recruited from Bellvitge University Hospital (Barcelona, Spain). MDD participants were diagnosed following DSM-IV-TR criteria (540) and aMCI fulfil Petersen criteria (541) for MCI, a Clinical Dementia Rating (CDR) of 0.5 points (538) and altered punctuations for delayed recall in the Weschler Memory Scale (542). Exclusion criteria included be under 60 or above 75 years old, past or present neurologic or psychiatric disorders (other than group's specifics), > 3 points on the Hachinski Ischemia Scale, > 0.5 in the CDR, mental disability, any medical or sensorial condition preventing to do the clinical or MRI assessments, or contraindication for MRI study. Participants were assessed clinically and with neuropsychological tests that included depression, cognitive screening, functional abilities, attention, learning, memory, executive functions or language measures.

## 4.2. Experimental conditions

- **Resting-state sequence:** during this acquisition participants laid inside the scanner and were instructed to stay awake and relaxed, without doing any cognitive task and with closed eyes. We used this sequence in Study 1.
- **Oddball task:** in the Study 2 we used a visual oddball paradigm that is an attentional task of stimuli detection that measures the activity of LC (484). Frequent standard (200) and infrequent target/oddball (50) stimuli were pseudorandomly presented to subjects, who indicated the detection of the oddball stimuli with a response box. To minimize fatigue, different blocks with a static cross were interspersed throughout the task.

## 4.3. MRI analyses

- **Structural MRI:** in both Study 1 and 2 we used structural MRI data to obtain a segmentation of gray and white matter and CSF. We used the signal of white matter and CSF to correct physiological noise in the functional images denoising step.
- **Functional MRI:** fMRI use blood-oxygen-level dependent (BOLD) signal as an indirect measure of brain activity. These data different experimental designs and methods have been developed in order to study cerebral biological processes:
  - In Study 1 and 2 we perform a **voxel-based analysis**, in order to get correlation maps that inform of the degree of connectivity of each voxel of a restricted region (brainstem/pons) with the rest of the brain.
  - In Study 1, we used the results derived from the first step (voxel-based analysis) as a seed to perform a **seed-based analysis** and study the connectivity of the result (localized in the LC) with the rest of the brain.

- In Study 2, we also used the result of the voxel-based analysis as a seed (also located in the LC) but this time we perform a **psychophysiological interactions analysis**. This kind of analysis is based in the measure of mental process, influenced by the stimuli condition, which modulate the connectivity between different areas. With this analysis, we studied the influence of the visual oddball task in the FC between the LC and the rest of the brain.

### 4.4. Analysis of clinical, neuropsychological and behavioral data

In order to compare groups and to investigate if there was any association between clinical, neuropsychological and behavioral data, different analyses (independent t-tests, ANOVA, Pearson's correlations) were conducted with SPSS software.

## 5. Results

**Study 1:** "Disrupted functional connectivity of the locus coeruleus in healthy adults with parental history of Alzheimer's disease"

- The O-LOAD group showed, in comparison to HC, decreased global FC in the left LC. This connectivity was negatively associated with depressive symptoms values and positively correlated with cognitive screening and memory measures in the whole sample.
- In comparison with HC, O-LOAD presented a decreased FC between left LC and posterior cerebellum regions, like bilateral Crus I and left lobe VI and IX.
- Delayed recall punctuations were positively associated with the connectivity between LC and left Crus I in O-LOAD and left lobe VI in HC.

**Study 2:** “Locus coeruleus connectivity alterations in late-life major depressive disorder during a visual oddball task”

- MDD group showed a lower global connectivity in the right LC in comparison with aMCI and HC when detecting oddball stimuli.
- In front of these oddball stimuli, MDD presented a lower connectivity between right LC and left anterior cingulate cortex (ACC), right fusiform gyrus (FG) and right posterior cerebellum, in comparison to aMCI and HC.
- In MDD group, the connectivity between LC and ACC was negatively correlated with depression severity and number of episodes measures. MDD with an active episode of depression showed lower LC-ACC connectivity values and higher depression severity scores.

## 6. Discussion

The studies of this thesis are the first to assess the functional alterations of LC in early phases of NCD through fMRI. Different connectivity patterns have been characterized in some of the studied groups and alterations of LC functional connectivity with other brain regions have been associated with clinical and neuropsychological variables.

### 6.1. Functional alteration in the LC of early stages of NCD

We found decreased global connectivity of the LC in O-LOAD and MDD participants. The LC is a noradrenergic nucleus with wide projections to cortical and subcortical areas. Previous studies have shown that this is the first place where changes in tau protein appear in the neurodegenerative process and are present in different phases of the NCD continuum, in early stages and even in young asymptomatic individuals

(354,361,362,364). Nevertheless, the wide presence of these signs in cognitively impaired populations does not match with the estimated prevalence of NCDs. This is one of the reasons justifying the evaluation LC activity in addition to the assessment of its structural and molecular level alterations.

Metabolic and functional alterations of the LC have been found in an histologic study in asymptomatic individuals (494). In MDD patients, the implication of NA has been widely studied. Previous work has found different alterations in the LC and noradrenergic system in these patients, such as neuronal loss, axonal degeneration, density of adrenergic receptor alterations, reduction of NA transporter or a loss of structural integrity in MRI (491,504,507,508,578). Our results of the LC decreased global connectivity in O-LOAD and MDD supports these findings in asymptomatic populations and MDD patients. Moreover, the negative association between the global FC of the LC and depressive symptoms and cognitive and memory measures in the whole sample of the Study 1 further support the role of the LC and NA in depression and global cognitive impairment, and in the modulation of memory processes.

The between-study differences in the precise localization of LC findings could be due to individual and sample variations and other factors such as age (488,580). The study of LC connectivity of different coordinates along the LC and the comparison between O-LOAD and MDD groups could help us to elucidate if the topographic vulnerability detected in neuropathological studies (493) could be measured through fMRI.

## **6.2. Altered connectivity patterns with LC in early phases of NCD**

Connectivity between LC and posterior cerebellum was decreased in O-LOAD and MDD patients in our studies. This cerebellar region has been implicated in different cognitive functions and is connected with cortical areas also related to these functions

(588–590). Concretely, the cerebellar areas showing decreased connectivity with the LC in O-LOAD, the bilateral Crus I and left lobes IX and VI are related to the modulation of executive control network (ECN), default mode network (DMN), and salience network (SN), networks that have been found to present alterations during the early stages of the NCD process.

In MDD patients, connectivity was also diminished between the LC and the lobe IX during the detection of oddball stimuli. This result supports previous studies that point to the alteration of the DMN in depressive patients (592–594). Moreover, the MDD group showed a reduced connectivity between the LC and the lobe VIII of the vermis, which is related with emotional processing and dysregulation in affective disorders (591,595,597); also with the cerebellar lobes VIII and III, implicated in sensorimotor gating and processing that would support the evidence of sensorimotor symptoms in depressive patients (588,602,604,605). Moreover, this group of patients showed alterations in the LC-FG connectivity. This cortical region is associated with the processing of oddball stimuli and in depressive patients its alteration has been related with a hyper-reactivity to distractors during oddball tasks (611–615).

Lastly, we observed lower connectivity in MDD patients between LC and ACC. This area has been widely implicated with depression, showing structural alterations in these patients (618–621). There are dense connections between LC and ACC and their connection modulate arousal and selective attention (447,622,623). ACC is implicated in DMN but also in SN, playing an important role in the detection of salient stimuli, negative valence information processing or to give response to task difficulties (485,624–626). The ACC evaluates the usefulness of the task and produce a cost-benefit ratio: while the task is useful for the subject the LC will show a phasic activity mode, but when it is not useful anymore, the LC will return to a tonic activity mode (447). The alteration of the connectivity between these structures in MDD patients could be indicating possible problems in the shifting between both activity modes. In

our study, we found a negative association between the LC-ACC connectivity and severity and illness burden measures. These results together with the differentiation of LC-ACC connectivity values between the depressive group with an active episode and the group in remission, would be point to the implication of this circuit in depression symptoms and should be considered as a marker of state in depression.

### 6.3. General discussion and implications in future research

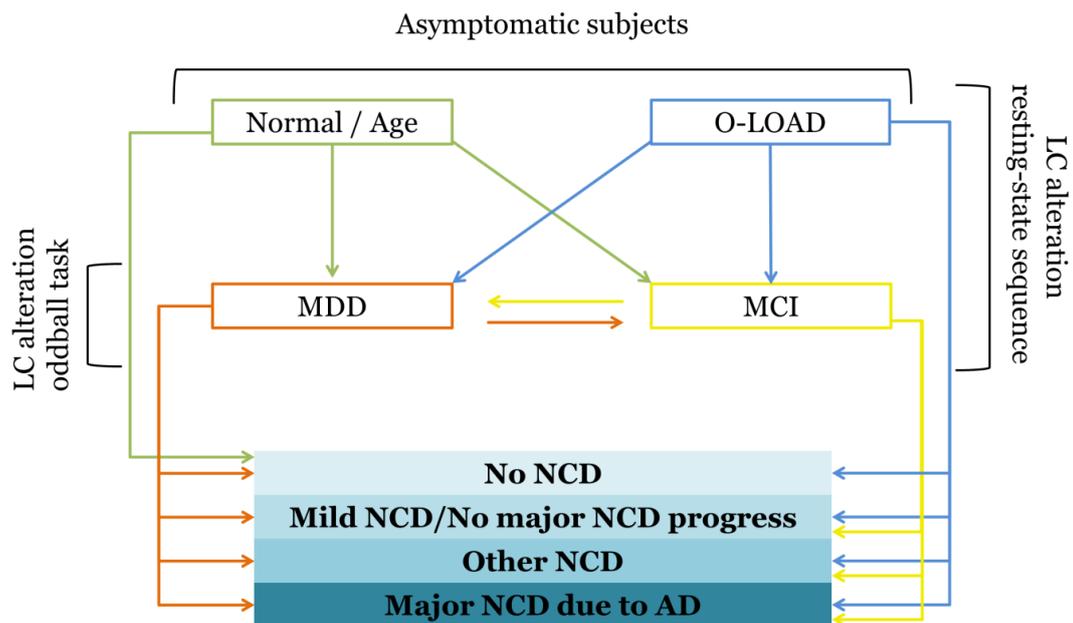
Our results point to an early functional degeneration of LC and different cortical and subcortical patterns. Since we found results in O-LOAD and MDD, we expected to also find these same alterations in MCI. Previous studies have shown a neuronal loss of 30% in aMCI, a 55% in MDD patients and a 70% in AD (365,379,492). Moreover, the number of neurons in AD patients with depressive symptoms is even lower than in AD without depression (363,373). These data and the results of our studies led us to think that MDD plays an important role in the neurodegenerative process and that these patients are likely closer to AD than aMCI individuals.

When LC connectivity was studied with a resting state sequence, we found decreased connectivity in O-LOAD. Previous studies have reported LC connectivity alterations in MCI (474). In both cases, these connectivity alterations were associated with delayed recall measures. This evidence seems to support that the assessment with a resting state sequence shows LC alterations in at-risk AD population, like O-LOAD and MCI, and that these disrupted patterns are related to memory processes and related areas.

However, when studying the functionality of LC with a cognitive task, such as the oddball, we do not find alterations in LC. Previous studies have presented that the LC of MCI shows a compensatory mechanism in front of cognitive task in order to achieve an adequate level of performance (532). This extra effort of LC in MCI could explain why

the connectivity of LC in these individuals is not diminished in our study. Moreover, MCI have shown a higher tonic activity in LC, assessed by pupillometry, which is a reliable measure of LC activity (533). This elevated tonic activity could cause an impairment of the inhibition capacity and could explain the higher commission errors in the MCI of our study.

With these data we could think that MDD patients present more severe degeneration in LC than MCI and the study of groups of the NCD continuum with different characteristics could help us to confirm this hypothesis. Another possible explanation that would support our results and previous evidence would be based on a model in which the different entities would respond to different neurodegenerative processes and that these entities would not necessarily be in the same neurodegenerative path (**Figure 1**).



**Figure 1.** Schematic representation of a possible explanatory model of the evolution of the neurodegenerative process based on the alterations found in our studies and previous evidence. This hypothesis puts together the possible interactions between the different phases of the neurodegenerative process and their evolution. Structural data of the LC, together with fMRI and pupillometry, suggest that the integrity of this nucleus decreases across the continuum HC, O-LOAD, MCI and late-life MDD. Subjects in these groups may progress to major NCD due to AD, but they may also remain in mild NCD without progressing to AD, developing another kind of NCD or never developing any type of NCD. Groups with lower probabilities of NCD development are at the top of the figure (in cold colors); groups with higher incidence rates of NCD are in the second line (in warmer colors).

In this model each risk factor would have a specific weight and with the combination of all of them we could predict the evolution of each individual, their prognosis and create personalized treatments. The detection of functional alterations in the LC and subjects' characteristics could help us to distinguish the presence of a neurodegenerative process. With this aim, research could help us to better understand the neurodegenerative process and the role of LC connectivity and its utility as an early biomarker of NCD:

- LC connectivity and activity could be studied in different groups (O-LOAD, MCI, MDD, AD), and the comparison between them would help us to evaluate connectivity alterations in the LC in different neurodegenerative stages.
- We could differentiate if disrupted connectivity patterns between LC and specific regions are cumulative and due to the neurodegenerative burden (LC-posterior cerebellum in O-LOAD vs. LC-posterior cerebellum + ACC + FG in MDD) or if these patterns are characteristics of each specific NCD subtype (e.g., LC-ACC and FG alterations in NCD with depressive symptoms).
- The study of the global connectivity from different LC coordinates and of the connectivity between these coordinates and the rest of the brain. The comparison of these analyses between groups could help us to discover if we can measure the LC topographic vulnerability to neurodegenerative process with fMRI and in different groups, if the connectivity of each coordinate presents different associations with cerebral regions and if they characterize different stages of the neurodegenerative process.
- We could also compare activity and connectivity LC patterns in resting state and cognitive tasks, such as the oddball task, and compare it between different groups. The possible differences between using neutral or emotional stimuli could also be investigated in order to distinguish if they could have any kind of interaction with depressive symptoms for example.

- We could obtain more accurate information of LC functionality if we added pupillometry assessment.
- Other kind of tasks, like those related with memory that have been associated with LC connectivity alterations in MCI (627), could also help us to better understand LC function.
- To have information from multiple biomarkers of the studied subjects (CSF A $\beta$  and tau, FDG PET, amyloid and tau PET) to compare the LC connectivity measures could help us to get more accurate conclusions about the usefulness of fMRI in the evaluation of LC functionality as an early marker of neurodegenerative process.
- The longitudinal study of these subjects could give us valuable information with the purpose of studying their evolution and discovering if the decrease of LC connectivity could serve as an early neurodegenerative biomarker.
- With the results of the evaluation of those biomarkers, including LC functional alterations, we could develop models that allow us to give different weights to each neurodegenerative sign in the illness progress.

Knowing the course of the possible subtypes of NCD, their characteristics and the contributing risk factors could lead us to evaluate different early alterations, like LC functionality changes through no invasive methods, like fMRI more accurately. This approach gets closer to personalized medicine and could offer us the opportunity of discovering new early temporal windows in which to detect the first NCD signs in order to create individual prognostics and treatments based on the patient's characteristics and the disease burden in a more precise and early way.

### 6.4. Limitations

The results obtained in the studies included in this thesis have to be considered within the context of some limitations.

The comparison of the results of both studies must be done cautiously for different reasons. First, the functional sequences used in each work are different, in the first one we used a resting-state sequence, and in the second one we assessed LC connectivity during the performance of an oddball task. The activity and connectivity in each of them is expected to be different: in the oddball task we wanted to cause changes in the LC activity, from tonic to phasic modes, while in resting state we would expect more constant activity and connectivity patterns.

Moreover, the characteristics of the included samples in both studies are different. Besides the clinical symptoms of each group, the participants of the first study presented a lower mean age than the subjects of the second study. Along life LC integrity changes, so the normal neuronal loss starts at the age of 50 years old (490). This is the reason why we would expect some differences in the functionality of the LC and why the combined interpretation of these works should be done carefully.

A third point to take into account is the localization of LC in each study. In the second work, we had a LC map of our sample because we acquired a neuromelanin sensitive sequence, while in the first study we did not have a similar sequence to localize the LC. We used for this end a previously published LC map (581). Nevertheless the localization of LC can change in each individual and the LC maps previously published are different (580). That is why the analyses in both papers were approached in the same way: we firstly performed a voxel-based analysis to localize the LC in the functional images of each study and then we used this cluster to perform the characterization of the connectivity of this nucleus.

Even if in both studies we found associations between the decrease in the LC global connectivity or in the LC-ACC connectivity with the measures of depression, the tests used to assess these depressive symptoms were not the same. Moreover, in the Study 1 the association appears when we did this association in the whole sample, and in the second study we identified this correlation when we focused on the depressive group. For these reasons, the interpretation about the implication of depression in the LC connectivity must be done. Future research would be helpful to elucidate the role of LC in the presence and severity of depressive symptoms and their implication in NCD.

## 7. Conclusions

1. We found early alteration in the noradrenergic system of direct familial of Alzheimer's disease (AD) patients:
  - 1.1. Global connectivity of LC in offspring of late-onset AD (O-LOAD) is diminished in resting state.
    - 1.1.1. This alteration of the functional connectivity (FC) is negatively associated with depressive symptoms in the whole sample.
    - 1.1.2. Specifically, the FC between the LC and posterior cerebellum is diminished in O-LOAD.
      - 1.1.2.1. Both in O-LOAD and healthy controls (HC), the connectivity between LC and posterior cerebellum is positively associated with the delayed recall.
2. Patients with major depressive disorder (MDD) show noradrenergic system alterations during the performance of a visual oddball task:
  - 2.1. MDD patients show a lower global connectivity in LC during the detection of salient stimuli.
  - 2.2. Depressive patients show diminished connectivity between LC and anterior cingulate cortex (ACC), fusiform gyrus (FG) and posterior cerebellum in front of oddball stimuli.

- 2.2.1. MDD with an active depressive episode showed lower connectivity between LC and ACC in comparison to those in remission.
  - 2.3. Connectivity between LC and ACC is negatively associated with measures of depressive symptoms severity and disease burden in the MDD group.
    - 2.3.1. Those with active depression showed more severe depressive symptoms.
3. Our findings indicate that the assessment of the LC connectivity could be a useful marker for the detection of early alterations in the noradrenergic system in the neurodegenerative process.
4. LC – posterior cerebellum connectivity could be carrying out an important role in the impairment of mnemonic function in NCD.
5. LC alterations are associated with depressive symptoms and the presentation of MDD. Moreover, the more severe changes in this connectivity appear in active depressive episodes.





# Referencias

---



---

## 9. Referencias

1. Berchtold NC, Cotman CW. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiol Aging*. 1998;19(3):173-89.
2. Román GC. A historical review of the concept of vascular dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1999;13(Supplement):S4-8.
3. Berrios GE. Dementia during the seventeenth and eighteenth centuries: A conceptual history. *Psychol Med*. 1987;17(4):829-37.
4. Beach TG. The history of Alzheimer's disease: three debates. *J Hist Med Allied Sci*. 1987;42(3):327-49.
5. Kidd M. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's Disease. *Nature*. 1963;197(4863):192-3.
6. Terry RD. The fine structure of neurofibrillary tangles in alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1963;22(4):629-42.
7. Burger PC, Vogel FS. The development of the pathologic changes of Alzheimer's disease and senile dementia in patients with Down's syndrome. *Am J Pathol*. 1973;73(2):457-76.
8. Fox JH, Huckman MS. Computerized tomography: A recent advance in evaluating senile dementia. *Geriatrics*. 1975;30(11):97-100.
9. Huckman MS, Fox JH, Ramsey RG. Computed tomography in the diagnosis of degenerative diseases of the brain. *Semin Roentgenol*. 1977;12(1):63-75.
10. Ramani S V, Loewenson RB, Gold L. Computerized tomographic scanning and the diagnosis of dementia. *N Engl J Med*. 1979;300(23):1337.
11. Wood JG, Mirra SS, Pollock NJ, Binder LI. Neurofibrillary tangles of Alzheimer disease share antigenic determinants with the axonal microtubule-associated protein tau ( $\tau$ ). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(11):4040-3.
12. Baner C, Lassmann H, Budka H, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Wiche G, et al. Neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy: antigenic similarities and differences - Microtubule-associated protein tau antigenicity is prominent in all types of tangles. *Acta Neuropathol*. 1987;74(1):39-46.
13. Wong CW, Quaranta V, Glenner GG. Neuritic plaques and cerebrovascular amyloid in Alzheimer disease are antigenically related. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82(24):8729-32.
14. Braak H, Braak E, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Occurrence of neuropil threads in the senile human brain and in Alzheimer's disease: A third location of paired helical filaments outside of neurofibrillary tangles and neuritic plaques. *Neurosci Lett*. 1986;65(3):351-5.
15. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*. 1991;82(4):239-59.

16. Braak H, Braak E. Staging of alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol Aging*. 1995;16(3):271-8.
17. Harris R. Genetics of Alzheimer's disease. *Br Med J*. 1982;284(6322):1065-6.
18. Goudsmit J. Transmissibility of Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry*. 1982;139(10):1381.
19. Heston LL, Mastri AR, Anderson VE, White J. Dementia of the Alzheimer type: clinical genetics, natural history, and associated conditions. *Arch Gen Psychiatry*. 1981;38(10):1085-90.
20. Amaducci LA, Fratiglioni L, Rocca WA, Fieschi C, Livrea P, Pedone D, et al. Risk factors for clinically diagnosed Alzheimer's disease: a case-control study of an Italian population. *Neurology*. 1986;36(7):922-31.
21. Weiler PG. Risk factors associated with senile dementia of the Alzheimer's type. *Am J Prev Med*. 1986;2(5):297-305.
22. Eichhorn GL. Aging, genetics, and the environment: Potential of errors introduced into genetic information transfer by metal ions. *Mech Ageing Dev*. 1979;9(3-4):291-301.
23. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 5th ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2013.
24. Ganguli M, Blacker D, Blazer DG, Grant I, Jeste D V., Paulsen JS, et al. Classification of neurocognitive disorders in DSM-5: A work in progress. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2011;19(3):205-10.
25. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2011;7(3):280-92.
26. World Health Organisation. Dementia [Internet]. 2020 [citado 7 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
27. Weintraub S, Wicklund AH, Salmon DP. The neuropsychological profile of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(4).
28. Leyton CE, Hodges JR, Piguet O, Ballard KJ. Common and divergent neural correlates of anomia in amnesic and logopenic presentations of Alzheimer's disease. *Cortex*. 2017;86:45-54.
29. Beber BC, Kochhann R, Matias Da Silva B, Chaves MLF. Logopenic aphasia or Alzheimer's disease. Different phases of the same disease? *Dement Neuropsychol*. 2014;8(3):302-7.
30. Arnedo M, Bembibre J, Triviño M. *Neuropsicología. A través de casos clínicos*. Editorial Médica Panamericana; 2013.
31. Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol*. 2011;121(2):171-81.

32. Braak H, Del Tredici K. Spreading of tau pathology in sporadic Alzheimer's disease along cortico-cortical top-down connections. *Cereb Cortex*. 2018;28(9):3372-84.
33. Salmon DP, Bondi MW. Neuropsychological assessment of dementia. *Annu Rev Psychol*. 2009;60:257-82.
34. Kirova A-M, Bays RB, Lagalwar S. Working memory and executive function decline across normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Biomed Res Int*. 2015;2015:748212.
35. Johnson DK, Storandt M, Morris JC, Galvin JE. Longitudinal study of the transition from healthy aging to Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2009;66(10):1254-9.
36. Reitz C, Brayne C, Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(3):137-52.
37. Braak H, Del Tredici K. Potential pathways of abnormal tau and  $\alpha$ -synuclein dissemination in sporadic Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(11):1-23.
38. Ulrich J. Alzheimer changes in nondemented patients younger than sixty-five: Possible early stages of Alzheimer's disease and senile dementia of Alzheimer type. *Ann Neurol*. 1985;17(3):273-7.
39. Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: Age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2011;70(11):960-9.
40. Johnson KA, Schultz A, Betensky RA, Becker JA, Sepulcre J, Rentz D, et al. Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2016;79(1):110-9.
41. Schöll M, Lockhart SN, Schonhaut DR, O'Neil JP, Janabi M, Ossenkoppele R, et al. PET Imaging of tau deposition in the aging human brain. *Neuron*. 2016;89(5):971-82.
42. Kunkle BW, Grenier-Boley B, Sims R, Bis JC, Damotte V, Naj AC, et al. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A $\beta$ , tau, immunity and lipid processing. *Nat Genet*. 2019;51(3):414-30.
43. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2018;14(4):535-62.
44. Jeromin A, Bowser R. Biomarkers in neurodegenerative diseases. *Adv Neurobiol*. 2017;15:491-528.
45. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2011;377(9770):1019-31.
46. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63(2):168-74.

47. Yu JT, Tan L, Hardy J. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease: an update. *Annu Rev Neurosci*. 2014;37(1):79-100.
48. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, et al. Apolipoprotein E: High-avidity binding to  $\beta$ -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(5):1977-81.
49. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*. 1997;278(16):1356.
50. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993;261(5123):921-3.
51. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, St. George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, et al. Association of apolipoprotein E allele  $\epsilon$ 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993;43(8):1467-72.
52. Martinez M, Campion D, Brice A, Hannequin D, Dubois B, Didierjean O, et al. Apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 allele and familial aggregation of Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 1998;55(6):810-6.
53. Veitch DP, Weiner MW, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Green RC, et al. Understanding disease progression and improving Alzheimer's disease clinical trials: Recent highlights from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Alzheimer's Dement*. 2019;15(1):106-52.
54. Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, et al. Increased amyloid  $\beta$ -peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(20):9649-53.
55. Ossenkoppele R, Schonhaut DR, Schöll M, Lockhart SN, Ayakta N, Baker SL, et al. Tau PET patterns mirror clinical and neuroanatomical variability in Alzheimer's disease. *Brain*. 2016;139(5):1551-67.
56. Shi Y, Yamada K, Liddel SA, Smith ST, Zhao L, Luo W, et al. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature*. 2017;549(7673):523-7.
57. Singh-Manoux A, Dugravot A, Shipley M, Brunner EJ, Elbaz A, Sabia S, et al. Obesity trajectories and risk of dementia: 28 years of follow-up in the Whitehall II Study. *Alzheimer's Dement*. 2018;14(2):178-86.
58. Dye L, Boyle NB, Champ C, Lawton C. The relationship between obesity and cognitive health and decline. *Proc Nutr Soc*. 2017;76(4):443-54.
59. Pedditzi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age Ageing*. 2016;45(1):14-21.
60. Lee Y, Back JH, Kim J, Kim SH, Na DL, Cheong HK, et al. Systematic review of health behavioral risks and cognitive health in older adults. *Int Psychogeriatrics*.

- 2010;22(2):174-87.
61. Baumgart M, Snyder HM, Carrillo MC, Fazio S, Kim H, Johns H. Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimer's Dement.* 2015;11(6):718-26.
  62. Hamer M, Chida Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: A systematic review of prospective evidence. *Psychol Med.* 2009;39(1):3-11.
  63. Valenzuela MJ, Sachdev P. Brain reserve and dementia: A systematic review. *Psychol Med.* 2006;36(4):441-54.
  64. Arenaza-Urquijo EM, Molinuevo JL, Sala-Llonch R, Solé-Padullés C, Balasa M, Bosch B, et al. Cognitive reserve proxies relate to gray matter loss in cognitively healthy elderly with abnormal cerebrospinal fluid amyloid- $\beta$  levels. *J Alzheimer's Dis.* 2013;35(4):715-26.
  65. Gutwinski S, Schreiter S, Priller J, Henssler J, Wiers CE, Heinz A. Drink and think: impact of alcohol on cognitive functions and dementia - evidence of dose-related effects. *Pharmacopsychiatry.* 2018;51(4):136-43.
  66. Topiwala A, Ebmeier KP. Effects of drinking on late-life brain and cognition. *Evid Based Ment Health.* 2018;21(1):12-5.
  67. Anstey KJ, Mack HA, Cherbuin N. Alcohol consumption as a risk factor for dementia and cognitive decline: meta-analysis of prospective studies. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2009;17(7):542-55.
  68. Bubu OM, Andrade AG, Umasabor-Bubu OQ, Hogan MM, Turner AD, de Leon MJ, et al. Obstructive sleep apnea, cognition and Alzheimer's disease: A systematic review integrating three decades of multidisciplinary research. *Sleep Med Rev.* 2020;50:101250.
  69. Andrade AG, Bubu OM, Varga AW, Osorio RS. The relationship between obstructive sleep apnea and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2018;64(s1):S255-70.
  70. Peter-Derex L, Yammine P, Bastuji H, Croisile B. Sleep and Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev.* 2015;19:29-38.
  71. Wanleenuwat P, Iwanowski P, Kozubski W. Alzheimer's dementia: pathogenesis and impact of cardiovascular risk factors on cognitive decline. *Postgrad Med.* 2019;131(7):415-22.
  72. Hachinski V. The convergence of stroke and dementia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2018;76(12):849-52.
  73. Vijayan M, Reddy PH. Stroke, vascular dementia, and Alzheimer's disease: molecular links. *J Alzheimer's Dis.* 2016;54(2):427-43.
  74. Meneilly GS, Tessier DM. Diabetes, dementia and hypoglycemia. *Can J Diabetes.* 2016;40(1):73-6.
  75. Biessels GJ, Despa F. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(10):591-604.

## Referencias

---

76. Ninomiya T. Diabetes mellitus and dementia. *Curr Diab Rep.* 2014;14(5):487.
77. Ramos-Cejudo J, Wisniewski T, Marmar C, Zetterberg H, Blennow K, de Leon MJ, et al. Traumatic brain injury and Alzheimer's disease: the cerebrovascular link. *EBioMedicine.* 2018;28:21-30.
78. Li Y, Li Y, Li X, Zhang S, Zhao J, Zhu X, et al. Head injury as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 32 observational studies. *PLoS One.* 2017;12(1):e0169650.
79. Xu R, Wang Q. Towards understanding brain-gut-microbiome connections in Alzheimer's disease. *BMC Syst Biol.* 2016;10 Suppl 3:63.
80. Van Giau V, Wu SY, Jamerlan A, An SSA, Kim SY, Hulme J. Gut microbiota and their neuroinflammatory implications in alzheimer's disease. *Nutrients.* 2018;10(11).
81. MahmoudianDehkordi S, Arnold M, Nho K, Ahmad S, Jia W, Xie G, et al. Altered bile acid profile associates with cognitive impairment in Alzheimer's disease—An emerging role for gut microbiome. *Alzheimer's Dement.* 2019;15(1):76-92.
82. McGrattan AM, McGuinness B, McKinley MC, Kee F, Passmore P, Woodside J V., et al. Diet and inflammation in cognitive ageing and Alzheimer's disease. *Curr Nutr Rep.* 2019;8(2):53-65.
83. Leigh SJ, Kaakoush NO, Bertoldo MJ, Westbrook RF, Morris MJ. Intermittent cafeteria diet identifies fecal microbiome changes as a predictor of spatial recognition memory impairment in female rats. *Transl Psychiatry.* 2020;10(1):36.
84. Saji N, Murotani K, Hisada T, Tsuduki T, Sugimoto T, Kimura A, et al. The relationship between the gut microbiome and mild cognitive impairment in patients without dementia: a cross-sectional study conducted in Japan. *Sci Rep.* 2019;9(1):19227.
85. Ticinesi A, Tana C, Nouvenne A, Prati B, Lauretani F, Meschi T. Gut microbiota, cognitive frailty and dementia in older individuals: A systematic review. *Clin Interv Aging.* 2018;13:1497-511.
86. Li Z, Zhu H, Guo Y, Du X, Qin C. Gut microbiota regulate cognitive deficits and amyloid deposition in a model of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 2020;
87. Nagpal R, Neth BJ, Wang S, Craft S, Yadav H. Modified Mediterranean-ketogenic diet modulates gut microbiome and short-chain fatty acids in association with Alzheimer's disease markers in subjects with mild cognitive impairment. *EBioMedicine.* 2019;47:529-42.
88. Petersen RC, Caracciolo B, Brayne C, Gauthier S, Jelic V, Fratiglioni L. Mild cognitive impairment: A concept in evolution. *J Intern Med.* 2014;275(3):214-28.
89. Busse A, Hensel A, Gühne U, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG. Mild cognitive impairment: Long-term course of four clinical subtypes. *Neurology.* 2006;67(12):2176-85.
90. Butters MA, Young JB, Lopez O, Aizenstein HJ, Mulsant BH, Reynolds CF, et al.

- Pathways linking late-life depression to persistent cognitive impairment and dementia. *Dialogues Clin Neurosci.* 2008;10(3):345-57.
91. Baune BT, Miller R, McAfoose J, Johnson M, Quirk F, Mitchell D. The role of cognitive impairment in general functioning in major depression. *Psychiatry Res.* 2010;176(2-3):183-9.
  92. Lauriola M, Mangiacotti A, D'Onofrio G, Cascavilla L, Paris F, Ciccone F, et al. Late-life depression versus amnesic mild cognitive impairment: Alzheimer's disease incidence in 4 years of follow-up. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2018;46(3-4):140-53.
  93. Byers AL, Yaffe K. Depression and risk of developing dementia. *Nat Rev Neurol.* 2011;7(6):323-31.
  94. Devanand DP, Sano M, Tang MX, Taylor S, Gurland BJ, Wilder D, et al. Depressed mood and the incidence of Alzheimer's disease in the elderly living in the community. *Arch Gen Psychiatry.* 1996;53(2):175-82.
  95. Dal Forno G, Palermo MT, Donohue JE, Karagiozis H, Zonderman AB, Kawas CH. Depressive symptoms, sex, and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2005;57(3):381-7.
  96. Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, Loewenstein D. Depression and risk for Alzheimer disease: Systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63(5):530-8.
  97. Jorm AF. History of depression as a risk factor for dementia: An updated review. *Aust N Z J Psychiatry.* 2001;35(6):776-81.
  98. Richard E, Reitz C, Honig LH, Schupf N, Tang MX, Manly JJ, et al. Late-life depression, mild cognitive impairment, and dementia. *JAMA Neurol.* 2013;70(3):383-9.
  99. Dotson VM, Beydoun MA, Zonderman AB. Recurrent depressive symptoms and the incidence of dementia and mild cognitive impairment. *Neurology.* 2010;75(1):27-34.
  100. Wilson RS, Barnes LL, Mendes De Leon CF, Aggarwal NT, Schneider JS, Bach J, et al. Depressive symptoms, cognitive decline, and risk of AD in older persons. *Neurology.* 2002;59(3):364-70.
  101. Green RC, Cupples LA, Kurz A, Auerbach S, Go R, Sadovnick D, et al. Depression as a risk factor for Alzheimer disease: The MIRAGE Study. *Arch Neurol.* 2003;60(5):753-9.
  102. Zetterberg H, Burnham SC. Blood-based molecular biomarkers for Alzheimer's disease. *Mol Brain.* 2019;12(1):26.
  103. Stancu IC, Ferraiolo M, Terwel D, Dewachter I. Tau interacting proteins: gaining insight into the roles of tau in health and disease. En: *Tau Biology.* Springer; 2019. p. 145-66.
  104. Duyckaerts C, Dickson DW. Neuropathology of Alzheimer's Disease and its variants. En: *Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders.* 2nd ed. Wiley-Blackwell; 2011. p. 62-91.

## Referencias

---

105. Delacourte A. The natural and molecular history of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2006;9(SUPPL. 3):187-94.
106. Snowdon DA. Aging and Alzheimer's disease: Lessons from the Nun Study. *Gerontologist.* 1997;37(2):150-6.
107. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease and Down's syndrome: Sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984;122(3):1131-5.
108. Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(12):4245-9.
109. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta in 42 humans. *Ann Neurol.* 2006;59(3):512-9.
110. Dickson TC, Vickers JC. The morphological phenotype of  $\beta$ -amyloid plaques and associated neuritic changes in Alzheimer's disease. *Neuroscience.* 2001;105(1):99-107.
111. Gallardo G, Holtzman DM. Amyloid- $\beta$  and tau at the crossroads of Alzheimer's disease. En: *Tau Biology.* Springer; 2019. p. 187-203.
112. Jack CR, Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Aisen PS, Trojanowski JQ, et al. Evidence for ordering of Alzheimer disease biomarkers. *Arch Neurol.* 2011;68(12):1526-35.
113. Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM. Cerebrospinal fluid tau/ $\beta$ -amyloid<sub>42</sub> ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol.* 2007;64(3):343-9.
114. Ossenkoppele R, Jansen WJ, Rabinovici GD, Knol DL, van der Flier WM, van Berckel BNM, et al. Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *JAMA.* 2015;313(19):1939-49.
115. Doraiswamy PM, Sperling RA, Coleman RE, Johnson KA, Reiman EM, Davis MD, et al. Amyloid- $\beta$  assessed by florbetapir F 18 PET and 18-month cognitive decline: A multicenter study. *Neurology.* 2012;79(16):1636-44.
116. Ong K, Villemagne VL, Bahar-Fuchs A, Lamb F, Chételat G, Raniga P, et al. 18F-florbetaben Ab imaging in mild cognitive impairment. *Alzheimer's Res Ther.* 2013;5(1):4.
117. Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology.* 2002;58(12):1791-800.
118. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science.* 1992;256(5054):184-5.
119. Karran E, Mercken M, Strooper B De. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;10(9):698-712.

120. Witman GB, Cleveland DW, Weingarten MD, Kirschner MW. Tubulin requires tau for growth into microtubule initiating sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73(11):4070-4.
121. Guo T, Noble W, Hanger DP. Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathol*. 2017;133(5):665-704.
122. Maas T, Eidenmüller J, Brandt R. Interaction of tau with the neural membrane cortex is regulated by phosphorylation at sites that are modified in paired helical filaments. *J Biol Chem*. 2000;275(21):15733-40.
123. Pooler AM, Noble W, Hanger DP. A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neuropharmacology*. 2014;76(PART A):1-8.
124. Tai HC, Wang BY, Serrano-Pozo A, Frosch MP, Spire-Jones TL, Hyman BT. Frequent and symmetric deposition of misfolded tau oligomers within presynaptic and postsynaptic terminals in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2(1):146.
125. Ittner LM, Ke YD, Delerue F, Bi M, Gladbach A, van Eersel J, et al. Dendritic function of tau mediates amyloid- $\beta$  toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Cell*. 2010;142(3):387-97.
126. Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, et al. Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014;369(1633).
127. Regan P, Piers T, Yi JH, Kim DH, Huh S, Park SJ, et al. Tau phosphorylation at serine 396 residue is required for hippocampal LTD. *J Neurosci*. 2015;35(12):4804-12.
128. Chen Q, Zhou Z, Zhang L, Wang Y, Zhang YW, Zhong M, et al. Tau protein is involved in morphological plasticity in hippocampal neurons in response to BDNF. *Neurochem Int*. 2012;60(3):233-42.
129. Mansuroglu Z, Benhelli-Mokrani H, Marcato V, Sultan A, Violet M, Chauderlier A, et al. Loss of Tau protein affects the structure, transcription and repair of neuronal pericentromeric heterochromatin. *Sci Rep*. 2016;6.
130. Sotiropoulos I, Galas MC, Silva JM, Skoulakis E, Wegmann S, Maina MB, et al. Atypical, non-standard functions of the microtubule associated Tau protein. *Acta Neuropathol Commun*. 2017;5(1):91.
131. Violet M, Chauderlier A, Delattre L, Tardivel M, Chouala MS, Sultan A, et al. Prefibrillar Tau oligomers alter the nucleic acid protective function of Tau in hippocampal neurons in vivo. *Neurobiol Dis*. 2015;82:540-51.
132. Biernat J, Mandelkow EM, Schröter C, Lichtenberg-Kraag B, Steiner B, Berling B, et al. The switch of tau protein to an Alzheimer-like state includes the phosphorylation of two serine-proline motifs upstream of the microtubule binding region. *EMBO J*. 1992;11(4):1593-7.
133. Goedert M, Jakes R, Crowther RA, Cohen P, Vanmechelen E, Vandermeeren M, et al. Epitope mapping of monoclonal antibodies to the paired helical filaments of Alzheimer's disease: Identification of phosphorylation sites in tau protein. *Biochem J*. 1994;301(3):871-7.

## Referencias

---

134. Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(13):4913-7.
135. Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durand J. Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol*. 1985;17(1):89-96.
136. Goedert M, Jakes R. Expression of separate isoforms of human tau protein: Correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *EMBO J*. 1990;9(13):4225-30.
137. Schmidt ML, Gur RE, Gur RC, Trojanowski JQ. Intraneuronal and extracellular neurofibrillary tangles exhibit mutually exclusive cytoskeletal antigens. *Ann Neurol*. 1988;23(2):184-9.
138. Braak H, Braak E. Neuropil threads occur in dendrites of tangle-bearing nerve cells. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1988;14(1):39-44.
139. Perry G, Kawai M, Tabaton M, Onorato M, Mulvihill P, Richey P, et al. Neuropil threads of Alzheimer's disease show a marked alteration of the normal cytoskeleton. *J Neurosci*. 1991;11(6):1748-55.
140. DeVos SL, Corjuc BT, Oakley DH, Nobuhara CK, Bannon RN, Chase A, et al. Synaptic tau seeding precedes tau pathology in human Alzheimer's disease brain. *Front Neurosci*. 2018;12:267.
141. Li C, Götz J. Somatodendritic accumulation of tau in Alzheimer's disease is promoted by Fyn-mediated local protein translation. *EMBO J*. 2017;36(21):3120-38.
142. Malmqvist T, Anthony K, Gallo JM. Tau mRNA is present in axonal RNA granules and is associated with elongation factor 1A. *Brain Res*. 2014;1584:22-7.
143. Sultan A, Nessler F, Violet M, Bégard S, Loyens A, Talahari S, et al. Nuclear Tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem*. 2011;286(6):4566-75.
144. Dejanovic B, Huntley MA, De Mazière A, Meilandt WJ, Wu T, Srinivasan K, et al. Changes in the synaptic proteome in tauopathy and rescue of tau-induced synapse loss by C1q antibodies. *Neuron*. 2018;100(6):1336.
145. Tai HC, Serrano-Pozo A, Hashimoto T, Frosch MP, Spire-Jones TL, Hyman BT. The synaptic accumulation of hyperphosphorylated tau oligomers in Alzheimer disease is associated with dysfunction of the ubiquitin-proteasome system. *Am J Pathol*. 2012;181(4):1426-35.
146. Hanger DP, Goniotaki D, Noble W. Synaptic localisation of tau. En: *Tau Biology*. Springer; 2019. p. 105-12.
147. Li X, Kumar Y, Zempel H, Mandelkow EM, Biernat J, Mandelkow E. Novel diffusion barrier for axonal retention of Tau in neurons and its failure in neurodegeneration. *EMBO J*. 2011;30(23):4825-37.
148. Braak H, Del Tredici K. Top-Down Projections Direct the Gradual Progression of Alzheimer-Related Tau Pathology Throughout the Neocortex. En: *Tau Biology*.

- Springer; 2019. p. 291-303.
149. Ahmed Z, Cooper J, Murray TK, Garn K, McNaughton E, Clarke H, et al. A novel in vivo model of tau propagation with rapid and progressive neurofibrillary tangle pathology: The pattern of spread is determined by connectivity, not proximity. *Acta Neuropathol.* 2014;127(5):667-83.
  150. Liu L, Drouet V, Wu JW, Witter MP, Small SA, Clelland C, et al. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo. *PLoS One.* 2012;7(2):e31302.
  151. Mudher A, Colin M, Dujardin S, Medina M, Dewachter I, Alavi Naini SM, et al. What is the evidence that tau pathology spreads through prion-like propagation? *Acta Neuropathol Commun.* 2017;5(1):99.
  152. Brundin P, Melki R, Kopito R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2010;11(4):301-7.
  153. Calafate S, Buist A, Miskiewicz K, Vijayan V, Daneels G, de Strooper B, et al. Synaptic contacts enhance cell-to-cell tau pathology propagation. *Cell Rep.* 2015;11(8):1176-83.
  154. Clavaguera F, Bolmont T, Crowther RA, Abramowski D, Frank S, Probst A, et al. Transmission and spreading of tauopathy in transgenic mouse brain. *Nat Cell Biol.* 2009;11(7):909-13.
  155. De Calignon A, Polydoro M, Suárez-Calvet M, William C, Adamowicz DH, Kopeikina KJ, et al. Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease. *Neuron.* 2012;73(4):685-97.
  156. Dujardin S, Lécolle K, Caillierez R, Bégard S, Zommer N, Lachaud C, et al. Neuron-to-neuron wild-type Tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: Relevance to sporadic tauopathies. *Acta Neuropathol Commun.* 2014;2(1):14.
  157. Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M. The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends in Neurosciences.* 2010;33(7):317-25.
  158. Guo JL, Lee VMY. Seeding of normal tau by pathological tau conformers drives pathogenesis of Alzheimer-like tangles. *J Biol Chem.* 2011;286(17):15317-31.
  159. Kaufman SK, Del Tredici K, Thomas TL, Braak H, Diamond MI. Tau seeding activity begins in the transentorhinal/entorhinal regions and anticipates phospho-tau pathology in Alzheimer's disease and PART. *Acta Neuropathol.* 2018;136(1):57-67.
  160. Cabrales Fontela Y, Kadavath H, Biernat J, Riedel D, Mandelkow E, Zweckstetter M. Multivalent cross-linking of actin filaments and microtubules through the microtubule-associated protein Tau. *Nat Commun.* 2017;8(1):1-12.
  161. Hanger DP, Anderton BH, Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. *Trends Mol Med.* 2009;15(3):112-9.
  162. Jurado S. AMPA receptor trafficking in natural and pathological aging. *Front Mol Neurosci.* 2018;10:446.

## Referencias

---

163. Kopeikina KJ, Polydoro M, Tai HC, Yaeger E, Carlson GA, Pitstick R, et al. Synaptic alterations in the rTg4510 mouse model of tauopathy. *J Comp Neurol*. 2013;521(6):1334-53.
164. Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, Mufson EJ. Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2006;27(10):1372-84.
165. Terry RD, Masliah E, Salmon DP, Butters N, DeTeresa R, Hill R, et al. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: Synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol*. 1991;30(4):572-80.
166. Perez-Nievas BG, Stein TD, Tai HC, Dols-Icardo O, Scotton TC, Barroeta-Espar I, et al. Dissecting phenotypic traits linked to human resilience to Alzheimer's pathology. *Brain*. 2013;136(8):2510-26.
167. Zhou L, McInnes J, Wierda K, Holt M, Herrmann AG, Jackson RJ, et al. Tau association with synaptic vesicles causes presynaptic dysfunction. *Nat Commun*. 2017;8(1):1-13.
168. DeKosky ST, Scheff SW. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: Correlation with cognitive severity. *Ann Neurol*. 1990;27(5):457-64.
169. Yoshiyama Y, Higuchi M, Zhang B, Huang SM, Iwata N, Saido TCC, et al. Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model. *Neuron*. 2007;53(3):337-51.
170. McInnes J, Wierda K, Snellinx A, Bounti L, Wang YC, Stancu IC, et al. Synaptogyrin-3 mediates presynaptic dysfunction induced by tau. *Neuron*. 2018;97(4):835.
171. Ruan Z, Ikezu T. Tau secretion. En: *Tau Biology*. Springer; 2019. p. 123-34.
172. Bouras C, Hof PR, Giannakopoulos P, Michel JP, Morrison JH. Regional distribution of neurofibrillary tangles and senile plaques in the cerebral cortex of elderly patients: a quantitative evaluation of a one-year autopsy population from a geriatric hospital. *Cereb Cortex*. 1994;4(2):138-50.
173. Gómez-Isla T, Price JL, McKeel DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 1996;16(14):4491-500.
174. West MJ, Coleman PD, Flood DG, Troncoso JC. Differences in the pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease. *Lancet*. 1994;344(8925):769-72.
175. Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):a006189.
176. Gómez-Isla T, Hollister R, West H, Mui S, Growdon JH, Petersen RC, et al. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1997;41(1):17-24.
177. Price JL, Davis PB, Morris JC, White DL. The distribution of tangles, plaques and related immunohistochemical markers in healthy aging and Alzheimer's

- disease. *Neurobiol Aging*. 1991;12(4):295-312.
178. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol*. 2010;9(1):119-28.
  179. Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, et al. National institute on aging-Alzheimer's association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: A practical approach. *Acta Neuropathol*. 2012;123(1):1-11.
  180. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*. 2013;12(2):207-16.
  181. Choi SH, Kim YH, Hebisch M, Sliwinski C, Lee S, D'Avanzo C, et al. A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease. *Nature*. 2014;515(7526):274-8.
  182. Umeda T, Maekawa S, Kimura T, Takashima A, Tomiyama T, Mori H. Neurofibrillary tangle formation by introducing wild-type human tau into APP transgenic mice. *Acta Neuropathol*. 2014;127(5):685-98.
  183. Zempel H, Thies E, Mandelkow E, Mandelkow EM. A $\beta$  oligomers cause localized Ca<sup>2+</sup> elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neurosci*. 2010;30(36):11938-50.
  184. Pooler AM, Polydoro M, Maury EA, Nicholls SB, Reddy SM, Wegmann S, et al. Amyloid accelerates tau propagation and toxicity in a model of early Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2015;3(1):14.
  185. Götz J, Chen F, Van Dorpe J, Nitsch RM. Formation of neurofibrillary tangles in P301L tau transgenic mice induced by A $\beta$ 42 fibrils. *Science*. 2001;293(5534):1491-5.
  186. Stancu IC, Vasconcelos B, Terwel D, Dewachter I. Models of  $\beta$ -amyloid induced Tau-pathology: the long and «folded» road to understand the mechanism. *Molecular Neurodegeneration*. 2014;9:51.
  187. Ma QL, Yang F, Rosario ER, Ubeda OJ, Beech W, Gant DJ, et al. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci*. 2009;29(28):9078-89.
  188. Bennett RE, DeVos SL, Dujardin S, Corjuc B, Gor R, Gonzalez J, et al. Enhanced tau aggregation in the presence of amyloid  $\beta$ . *Am J Pathol*. 2017;187(7):1601-12.
  189. Frandemiche ML, De Seranno S, Rush T, Borel E, Elie A, Arnal I, et al. Activity-dependent tau protein translocation to excitatory synapse is disrupted by exposure to amyloid-beta oligomers. *J Neurosci*. 2014;34(17):6084-97.
  190. Pinheiro S, Silva J, Mota C, Vaz-Silva J, Veloso A, Pinto V, et al. Tau mislocation in glucocorticoid-triggered hippocampal pathology. *Mol Neurobiol*. 2016;53(7):4745-53.

191. Regan P, Cho K. The role of tau in the post-synapse. En: *Tau Biology*. Springer; 2019. p. 113-21.
192. Sottejeau Y, Bretteville A, Cantrelle FX, Malmanche N, Demiaute F, Mendes T, et al. Tau phosphorylation regulates the interaction between BIN1's SH3 domain and Tau's proline-rich domain. *Acta Neuropathol Commun*. 2015;3:58.
193. Strittmatter WJ, Saunders AM, Goedert M, Weisgraber KH, Dong LM, Jakes R, et al. Isoform-specific interactions of apolipoprotein E with microtubule-associated protein tau: Implications for Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(23):11183-6.
194. Busche MA, Wegmann S, Dujardin S, Commins C, Schiantarelli J, Klickstein N, et al. Tau impairs neural circuits, dominating amyloid- $\beta$  effects, in Alzheimer models in vivo. *Nat Neurosci*. 2019;22(1):57-64.
195. Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, McCarthy J, Stern A, Christensen J, et al. Tau and Ab imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2016;8(338):338ra66.
196. Bloom GS. Amyloid- $\beta$  and tau. *JAMA Neurol*. 2014;71(4):505-8.
197. Roberson ED, Scearce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, et al. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid  $\beta$ -induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science*. 2007;316(5825):750-4.
198. Ittner LM, Götz J. Amyloid- $\beta$  and tau - A toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2011;12(2):67-72.
199. Usardi A, Pooler AM, Seereeram A, Reynolds CH, Derkinderen P, Anderton B, et al. Tyrosine phosphorylation of tau regulates its interactions with Fyn SH2 domains, but not SH3 domains, altering the cellular localization of tau. *FEBS J*. 2011;278(16):2927-37.
200. King ME, Kan HM, Baas PW, Erisir A, Glabe CG, Bloom GS. Tau-dependent microtubule disassembly initiated by prefibrillar  $\beta$ -amyloid. *J Cell Biol*. 2006;175(4):541-6.
201. Shipton OA, Leitz JR, Dworzak J, Acton CEJ, Tunbridge EM, Denk F, et al. Tau protein is required for amyloid  $\beta$ -induced impairment of hippocampal long-term potentiation. *J Neurosci*. 2011;31(5):1688-92.
202. Zempel H, Luedtke J, Kumar Y, Biernat J, Dawson H, Mandelkow E, et al. Amyloid- $\beta$  oligomers induce synaptic damage via Tau-dependent microtubule severing by TLL6 and spastin. *EMBO J*. 2013;32(22):2920-37.
203. Asai H, Ikezu S, Tsunoda S, Medalla M, Luebke J, Haydar T, et al. Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nat Neurosci*. 2015;18(11):1584-93.
204. Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2013;368(2):117-27.
205. Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson P V., Snaedal J, et al. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2013;368(2):107-16.

206. Piccio L, Buonsanti C, Mariani M, Cella M, Gilfillan S, Cross AH, et al. Blockade of TREM-2 exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol.* 2007;37(5):1290-301.
207. Takahashi K, Rochford CDP, Neumann H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J Exp Med.* 2005;201(4):647-57.
208. Ulrich JD, Finn MB, Wang Y, Shen A, Mahan TE, Jiang H, et al. Altered microglial response to A $\beta$  plaques in APPPS1-21 mice heterozygous for TREM2. *Mol Neurodegener.* 2014;9(1):20.
209. Yuan P, Condello C, Keene CD, Wang Y, Bird TD, Paul SM, et al. TREM2 haplodeficiency in mice and humans impairs the microglia barrier function leading to decreased amyloid compaction and severe axonal dystrophy. *Neuron.* 2016;90(4):724-39.
210. Kitazawa M, Yamasaki TR, LaFerla FM. Microglia as a potential bridge between the amyloid  $\beta$ -peptide and tau. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1035:85-103.
211. Braak H, Del Tredici K. Where, when, and in what form does sporadic Alzheimer's disease begin? Vol. 25, *Current Opinion in Neurology.* 2012. p. 708-14.
212. Elobeid A, Soininen H, Alafuzoff I. Hyperphosphorylated tau in young and middle-aged subjects. *Acta Neuropathol.* 2012;123(1):97-104.
213. Arnold SE, Hyman BT, Flory J, Damasio AR, Van Hoesen GW. The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Cereb Cortex.* 1991;1(1):103-16.
214. Braak H, Del Tredici K. Neuroanatomy and pathology of sporadic Alzheimer's disease. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2015;215:1-162.
215. Dugger BN, Hidalgo JA, Chiarolanza G, Mariner M, Henry-Watson J, Sue LI, et al. The distribution of phosphorylated Tau in spinal cords of Alzheimer's disease and non-demented individuals. *J Alzheimer's Dis.* 2013;34(2):529-36.
216. Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrillo MC, et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2012;8(1):1-13.
217. Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2007;3(3):186-91.
218. Frahm-Falkenberg S, Ibsen R, Kjellberg J, Jennum P. Health, social and economic consequences of dementias: a comparative national cohort study. *Eur J Neurol.* 2016;23(9):1400-7.
219. Purohit DP, Batheja NO, Sano M, Jashnani KD, Kalaria RN, Karunamurthy A, et al. Profiles of Alzheimer's disease-related pathology in an aging urban population sample in India. *J Alzheimer's Dis.* 2011;24(1):187-96.
220. Amieva H, Le Goff M, Millet X, Orgogozo JM, Pérès K, Barberger-Gateau P, et al.

- Prodromal Alzheimer's disease: successive emergence of the clinical symptoms. *Ann Neurol.* 2008;64(5):492-8.
221. Nelson PT, Jicha GA, Schmitt FA, Liu H, Davis DG, Mendiondo MS, et al. Clinicopathologic correlations in a large Alzheimer disease center autopsy cohort: Neuritic plaques and neurofibrillary tangles «do count» when staging disease severity. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007;66(12):1136-46.
222. Sabbagh MN, Cooper K, DeLange J, Stoehr JD, Thind K, Lahti T, et al. Functional, global and cognitive decline correlates to accumulation of Alzheimers pathology in MCI and AD. *Curr Alzheimer Res.* 2010;7(4):280-6.
223. Sonnen JA, Larson EB, Crane PK, Haneuse S, Li G, Schellenberg GD, et al. Pathological correlates of dementia in a longitudinal, population-based sample of aging. *Ann Neurol.* 2007;62(4):406-13.
224. Sousa N, Almeida OFX. Disconnection and reconnection: The morphological basis of (mal)adaptation to stress. *Trends Neurosci.* 2012;35(12):742-51.
225. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6(6):463-75.
226. Sotiropoulos I, Silva JM, Gomes P, Sousa N, Almeida OFX. Stress and the etiopathogenesis of Alzheimer's disease and depression. En: *Tau Biology.* Springer; 2019. p. 241-57.
227. O'Brien JT, Ames D, Schweitzer I, Mastwyk M, Colman P. Enhanced adrenal sensitivity to adrenocorticotrophic hormone (ACTH) is evidence of HPA axis hyperactivity in Alzheimer's disease. *Psychol Med.* 1996;26(1):7-14.
228. Rasmuson S, Andrew R, Näsman B, Seckl JR, Walker BR, Olsson T. Increased glucocorticoid production and altered cortisol metabolism in women with mild to moderate Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 2001;49(6):547-52.
229. Lucassen PJ, Pruessner J, Sousa N, Almeida OFX, Van Dam AM, Rajkowska G, et al. Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol.* 2014;127(1):109-35.
230. Lupien SJ, De Leon M, De Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NPV, et al. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nat Neurosci.* 1998;1(1):69-73.
231. Rapp MA, Schnaider-Beeri M, Grossman HT, Sano M, Perl DP, Purohit DP, et al. Increased hippocampal plaques and tangles in patients with Alzheimer disease with a lifetime history of major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63(2):161-7.
232. Kim HK, Villela Nunes P, Oliveira KC, Young LT, Lafer B. Neuropathological relationship between major depression and dementia: A hypothetical model and review. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2016;67:51-7.
233. Namekawa Y, Baba H, Maeshima H, Nakano Y, Satomura E, Takebayashi N, et al. Heterogeneity of elderly depression: increased risk of Alzheimer's disease and A $\beta$  protein metabolism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013;43:203-8.
234. Braak H, Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different

- age categories. *Neurobiol Aging*. 1997;18(4):351-7.
235. Tsopelas C, Stewart R, Savva GM, Brayne C, Ince P, Thomas A, et al. Neuropathological correlates of late-life depression in older people. *Br J Psychiatry*. 2011;198(2):109-14.
  236. Quintanilla RA, Dolan PJ, Jin YN, Johnson GVW. Truncated tau and A $\beta$  cooperatively impair mitochondria in primary neurons. *Neurobiol Aging*. 2012;33(3):25-35.
  237. Von Bernhardt R, Eugenín J. Alzheimer's disease: Redox dysregulation as a common denominator for diverse pathogenic mechanisms. *Antioxidants Redox Signal*. 2012;16(9):974-1031.
  238. Marquié M, Siao Tick Chong M, Antón-Fernández A, Verwer EE, Sáez-Calveras N, Meltzer AC, et al. [F-18]-AV-1451 binding correlates with postmortem neurofibrillary tangle Braak staging. *Acta Neuropathol*. 2017;134(4):619-28.
  239. Clark CM, Pontecorvo MJ, Beach TG, Bedell BJ, Coleman RE, Doraiswamy PM, et al. Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid- $\beta$  plaques: A prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2012;11(8):669-78.
  240. Ikonomic MD, Klunk WE, Abrahamson EE, Mathis CA, Price JC, Tsopelas ND, et al. Post-mortem correlates of in vivo PiB-PET amyloid imaging in a typical case of Alzheimer's disease. *Brain*. 2008;131(6):1630-45.
  241. Murray ME, Lowe VJ, Graff-Radford NR, Liesinger AM, Cannon A, Przybelski SA, et al. Clinicopathologic and <sup>11</sup>C-Pittsburgh compound B implications of Thal amyloid phase across the Alzheimer's disease spectrum. *Brain*. 2015;138(5):1370-81.
  242. Thal DR, Beach TG, Zanette M, Heurling K, Chakrabarty A, Ismail A, et al. [18F]flutemetamol amyloid positron emission tomography in preclinical and symptomatic Alzheimer's disease: Specific detection of advanced phases of amyloid- $\beta$  pathology. *Alzheimer's Dement*. 2015;11(8):975-85.
  243. Seo SW, Ayakta N, Grinberg LT, Villeneuve S, Lehmann M, Reed B, et al. Regional correlations between [11C]PIB PET and post-mortem burden of amyloid-beta pathology in a diverse neuropathological cohort. *NeuroImage Clin*. 2017;13:130-7.
  244. Stroyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ. CSF A $\beta$  42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology*. 2003;60(4):652-6.
  245. Sintini I, Schwarz CG, Martin PR, Graff-Radford J, Machulda MM, Senjem ML, et al. Regional multimodal relationships between tau, hypometabolism, atrophy, and fractional anisotropy in atypical Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*. 2019;40(5):1618-31.
  246. Van Harten AC, Smits LL, Teunissen CE, Visser PJ, Koene T, Blankenstein MA, et al. Preclinical AD predicts decline in memory and executive functions in subjective complaints. *Neurology*. 2013;81(16):1409-16.
  247. Petersen RC, Wiste HJ, Weigand SD, Rocca WA, Roberts RO, Mielke MM, et al.

- Association of elevated amyloid levels with cognition and biomarkers in cognitively normal people from the community. *JAMA Neurol.* 2016;73(1):85-92.
248. Doré V, Villemagne VL, Bourgeat P, Fripp J, Acosta O, Chételat G, et al. Cross-sectional and longitudinal analysis of the relationship between  $\text{A}\beta$  deposition, cortical thickness, and memory in cognitively unimpaired individuals and in Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* 2013;70(7):903-11.
249. Andrews KA, Frost C, Modat M, Cardoso MJ, Rowe CC, Villemagne V, et al. Acceleration of hippocampal atrophy rates in asymptomatic amyloidosis. *Neurobiol Aging.* 2016;39:99-107.
250. Andrews KA, Modat M, Macdonald KE, Yeatman T, Cardoso MJ, Leung KK, et al. Atrophy rates in asymptomatic amyloidosis: implications for Alzheimer prevention trials. Ginsberg SD, editor. *PLoS One.* 2013;8(3):e58816.
251. Donohue MC, Sperling RA, Petersen R, Sun CK, Weiner M, Aisen PS. Association between elevated brain amyloid and subsequent cognitive decline among cognitively normal persons. *JAMA.* 2017;317(22):2305-16.
252. Gustafson DR, Skoog I, Rosengren L, Zetterberg H, Blennow K. Cerebrospinal fluid  $\beta$ -amyloid 1-42 concentration may predict cognitive decline in older women. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(5):461-4.
253. Skoog I, Davidsson P, Aevansson Ó, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Cerebrospinal fluid beta-amyloid 42 is reduced before the onset of sporadic dementia: A population-based study in 85-year-olds. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2003;15(3):169-76.
254. Nordberg A, Carter SF, Rinne J, Drzezga A, Brooks DJ, Vandenberghe R, et al. A European multicentre PET study of fibrillar amyloid in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013;40(1):104-14.
255. Rowe CC, Bourgeat P, Ellis KA, Brown B, Lim YY, Mulligan R, et al. Predicting Alzheimer disease with  $\beta$ -amyloid imaging: Results from the Australian imaging, biomarkers, and lifestyle study of ageing. *Ann Neurol.* 2013;74(6):905-13.
256. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levi Y, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2009;8(7):619-27.
257. Villemagne VL, Pike KE, Chételat G, Ellis KA, Mulligan RS, Bourgeat P, et al. Longitudinal assessment of  $\text{A}\beta$  and cognition in aging and Alzheimer disease. *Ann Neurol.* 2011;69(1):181-92.
258. Sperling RA, Johnson KA, Doraiswamy PM, Reiman EM, Fleisher AS, Sabbagh MN, et al. Amyloid deposition detected with florbetapir F 18 (18F-AV-45) is related to lower episodic memory performance in clinically normal older individuals. *Neurobiol Aging.* 2013;34(3):822-31.
259. Prestia A, Caroli A, Van Der Flier WM, Ossenkoppele R, Van Berckel B, Barkhof F, et al. Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. *Neurology.* 2013;80(11):1048-56.

260. Toledo JB, Weiner MW, Wolk DA, Da X, Chen K, Arnold SE, et al. Neuronal injury biomarkers and prognosis in ADNI subjects with normal cognition. *Acta Neuropathol Commun.* 2014;6(1):2-26.
261. Burnham SC, Bourgeat P, Doré V, Savage G, Brown B, Laws S, et al. Clinical and cognitive trajectories in cognitively healthy elderly individuals with suspected non-Alzheimer's disease pathophysiology (SNAP) or Alzheimer's disease pathology: a longitudinal study. *Lancet Neurol.* 2016;15(10):1044-53.
262. Kester MI, Teunissen CE, Crimmins DL, Herries EM, Ladenson JKH, Scheltens P, et al. Neurogranin as a cerebrospinal fluid biomarker for synaptic loss in symptomatic Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* 2015;72(11):1275-80.
263. Thorsell A, Bjerke M, Gobom J, Brunhage E, Vanmechelen E, Andreasen N, et al. Neurogranin in cerebrospinal fluid as a marker of synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2010;1362:13-22.
264. Fossati S, Ramos Cejudo J, Debure L, Pirraglia E, Sone JY, Li Y, et al. Plasma tau complements CSF tau and P-tau in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Diagn Assess Dis Monit.* 2019;11:483-92.
265. Yuan Y, Gu ZX, Wei WS. Fluorodeoxyglucose-positron-emission tomography, single-photon emission tomography, and structural MR imaging for prediction of rapid conversion to alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment: A meta-analysis. *Am J Neuroradiol.* 2009;30(2):404-10.
266. Park JE, Choi KY, Kim BC, Choi S-M, Song MK, Lee JJ, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of prodromal Alzheimer's disease in amnesic mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra.* 2019;9(1):100-13.
267. Robb C, Udeh-Momoh C, Wagenpfeil S, Schöpe J, Alexopoulos P, Pernecky R. Biomarkers and functional decline in prodromal Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2017;58(1):69-78.
268. Mattsson N, Smith R, Strandberg O, Palmqvist S, Schöll M, Insel PS, et al. Comparing 18 F-AV-1451 with CSF t-tau and p-tau for diagnosis of Alzheimer disease. *Neurology.* 2018;90(5):e388-95.
269. Youn HC, Lee S, Han C, Kim SH, Jeong HG. Association between brain amyloid accumulation and neuropsychological characteristics in elders with depression and mild cognitive impairment. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2019;34(12):1907-15.
270. Rapp MA, Schnaider-Beeri M, Purohit DP, Perl DP, Haroutunian V, Sano M. Increased neurofibrillary tangles in patients with alzheimer disease with comorbid depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2008;16(2):168-74.
271. Yasuda S, Baba H, Maeshima H, Shimano T, Inoue M, Ichikawa T, et al. Serum levels and mutual correlations of amyloid  $\beta$  in patients with depression. *Geriatr Gerontol Int.* 2020;20(2):125-9.
272. Sun X, Steffens DC, Au R, Folstein M, Summergrad P, Yee J, et al. Amyloid-associated depression: A prodromal depression of Alzheimer disease? *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(5):542-50.
273. Linnemann C, Lang UE. Pathways connecting late-life depression and dementia. *Front Pharmacol.* 2020;11:279.

## Referencias

---

274. Lopes S, Vaz-Silva J, Pinto V, Dalla C, Kokras N, Bedenk B, et al. Tau protein is essential for stress-induced brain pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(26):E3755-63.
275. Brown EE, Iwata Y, Chung JK, Gerretsen P, Graff-Guerrero A. Tau in late-life Depression: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimer's Dis*. 2016;54(2):615-33.
276. Reiman EM, Chen K, Alexander GE, Caselli RJ, Bandy D, Osborne D, et al. Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(1):284-9.
277. Scarmeas N, Habeck CG, Stern Y, Anderson KE. APOE genotype and cerebral blood flow in healthy young individuals. *J Am Med Assoc*. 2003;290(12):1581-2.
278. Johnson KA, Jones K, Holman BL, Becker JA, Spiers PA, Satlin A, et al. Preclinical prediction of Alzheimer's disease using SPECT. *Neurology*. 1998;50(6):1563-71.
279. Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, Kuhl DE. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1997;42(1):85-94.
280. Matsuda H. Cerebral blood flow and metabolic abnormalities in Alzheimer's disease. *Ann Nucl Med*. 2001;15(2):85-92.
281. Li Y, Rinne JO, Mosconi L, Pirraglia E, Rusinek H, Desanti S, et al. Regional analysis of FDG and PIB-PET images in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35:2169-81.
282. Sarikaya I. PET imaging in neurology: Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Nucl Med Commun*. 2015;36(8):775-81.
283. Hanseeuw BJ, Betensky RA, Schultz AP, Papp KV., Mormino EC, Sepulcre J, et al. Fluorodeoxyglucose metabolism associated with tau-amyloid interaction predicts memory decline. *Ann Neurol*. 2017;81(4):583-96.
284. Aziz AL, Giusiano B, Joubert S, Duprat L, Didic M, Gueriot C, et al. Difference in imaging biomarkers of neurodegeneration between early and late-onset amnesic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2017;54:22-30.
285. Bittner D, Grön G, Schirrmeyer H, Reske SN, Riepe MW. [18F]FDG-PET in patients with Alzheimer's disease: Marker of disease spread. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2005;19(1):24-30.
286. Edison P, Archer HA, Hinz R, Hammers A, Pavese N, Tai YF, et al. Amyloid, hypometabolism, and cognition in Alzheimer disease: An [11C]PIB and [18F]FDG PET study. *Neurology*. 2007;68:501-8.
287. Hoffman JM, Welsh-Bohmer KA, Hanson M, Crain B, Hulette C, Earl N, et al. FDG PET imaging in patients with pathologically verified dementia. *J Nucl Med*. 2000;41(11):1920-8.
288. Iaccarino L, Tammewar G, Ayakta N, Baker SL, Bejanin A, Boxer AL, et al. Local and distant relationships between amyloid, tau and neurodegeneration in

- Alzheimer's Disease. *NeuroImage Clin.* 2018;17:452-64.
289. Mosconi L, Rinne JO, Tsui WH, Berti V, Li Y, Wang H, et al. Increased fibrillar amyloid- $\beta$  burden in normal individuals with a family history of late-onset Alzheimer's. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(13):5949-54.
  290. Chandra A, Dervenoulas G, Politis M, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J Neurol.* 2019;266(6):1293-302.
  291. Du AT, Schuff N, Kramer JH, Ganzer S, Zhu XP, Jagust WJ, et al. Higher atrophy rate of entorhinal cortex than hippocampus in AD. *Neurology.* 2004;62(3):422-7.
  292. Pennanen C, Kivipelto M, Tuomainen S, Hartikainen P, Hänninen T, Laakso MP, et al. Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiol Aging.* 2004;25(3):303-10.
  293. Guo X, Wang Z, Li K, Li Z, Qi Z, Jin Z, et al. Voxel-based assessment of gray and white matter volumes in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2010;468(2):146-50.
  294. Li X, Coyle D, Maguire L, Watson DR, McGinnity TM. Gray matter concentration and effective connectivity changes in Alzheimer's disease: A longitudinal structural MRI study. *Neuroradiology.* 2011;53(10):733-48.
  295. Cavado E, Boccardi M, Ganzola R, Canu E, Beltramello A, Caltagirone C, et al. Local amygdala structural differences with 3T MRI in patients with Alzheimer disease. *Neurology.* 2011;76(8):727-33.
  296. De Jong LW, Van Der Hiele K, Veer IM, Houwing JJ, Westendorp RGJ, Bollen ELEM, et al. Strongly reduced volumes of putamen and thalamus in Alzheimer's disease: An MRI study. *Brain.* 2008;131(12):3277-85.
  297. Thomann PA, Dos Santos V, Toro P, Schönknecht P, Essig M, Schröder J. Reduced olfactory bulb and tract volume in early Alzheimer's disease-A MRI study. *Neurobiol Aging.* 2009;30(5):838-41.
  298. Möller C, Vrenken H, Jiskoot L, Versteeg A, Barkhof F, Scheltens P, et al. Different patterns of gray matter atrophy in early- and late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2013;34:2014-22.
  299. Duarte A, Hayasaka S, Du A, Schuff N, Jahng GH, Kramer J, et al. Volumetric correlates of memory and executive function in normal elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2006;406(1-2):60-5.
  300. Tabatabaei-Jafari H, Walsh E, Shaw ME, Cherbuin N. The cerebellum shrinks faster than normal ageing in Alzheimer's disease but not in mild cognitive impairment. *Hum Brain Mapp.* 2017;38(6):3141-50.
  301. Lee JH, Ryan J, Andreescu C, Aizenstein H, Lim HK. Brainstem morphological changes in Alzheimer's disease. *Neuroreport.* 2015;26(7):411-5.
  302. Frisoni GB, Fox NC, Jack CR, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010;6(2):67-77.

303. Zhang C, Kong M, Wei H, Zhang H, Ma G, Ba M. The effect of ApoE  $\epsilon$  4 on clinical and structural MRI markers in prodromal Alzheimer's disease. *Quant Imaging Med Surg.* 2020;10(2):464-74.
304. Donix M, Burggren AC, Suthana NA, Siddarth P, Ekstrom AD, Krupa AK, et al. Family history of Alzheimer's disease and hippocampal structure in healthy people. *Am J Psychiatry.* 2010;167(11):1399-406.
305. Honea RA, Swerdlow RH, Vidoni ED, Goodwin J, Burns JM. Reduced gray matter volume in normal adults with a maternal family history of Alzheimer disease. *Neurology.* 2010;74(2):113-20.
306. Lampert EJ, Roy Choudhury K, Hostage CA, Rathakrishnan B, Weiner M, Petrella JR, et al. Brain atrophy rates in first degree relatives at risk for Alzheimer's. *NeuroImage Clin.* 2014;6:340-6.
307. Reiter K, Alpert KI, Cobia DJ, Kwasny MJ, Morris JC, Csernansky JC, et al. Cognitively normal individuals with AD parents may be at risk for developing aging-related cortical thinning patterns characteristic of AD. *Neuroimage.* 2012;61(3):525-32.
308. Berti V, Mosconi L, Glodzik L, Li Y, Murray J, De Santi S, et al. Structural brain changes in normal individuals with a maternal history of Alzheimer's. *Neurobiol Aging.* 2011;32(12):17-26.
309. Honea RA, Swerdlow RH, Vidoni ED, Burns JM. Progressive regional atrophy in normal adults with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology.* 2011;76(9):822-9.
310. Kim YK, Han KM. Neural substrates for late-life depression: A selective review of structural neuroimaging studies. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry.* 2021;104:110010.
311. Geerlings MI, Gerritsen L. Late-life depression, hippocampal volumes, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation: a systematic review and meta-analysis. *Biol Psychiatry.* 2017;82(5):339-50.
312. Soriano-Mas C, Hernández-Ribas R, Pujol J, Urretavizcaya M, Deus J, Harrison BJ, et al. Cross-sectional and longitudinal assessment of structural brain alterations in melancholic depression. *Biol Psychiatry.* 2011;69(4):318-25.
313. Fazekas F, Kleinert R, Offenbacher H, Schmidt R, Kleinert G, Payer F, et al. Pathologic correlates of incidental mri white matter signal hyperintensities. *Neurology.* 1993;43(9):1683-9.
314. Capizzano AA, Ación L, Bekinschtein T, Furman M, Gomila H, Martínez A, et al. White matter hyperintensities are significantly associated with cortical atrophy in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75(6):822-7.
315. Jacobs HIL, Radua J, Lückmann HC, Sack AT. Meta-analysis of functional network alterations in Alzheimer's disease: Toward a network biomarker. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37(5):753-65.
316. Badhwar AP, Tam A, Dansereau C, Orban P, Hoffstaedter F, Bellec P. Resting-state network dysfunction in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit.* 2017;8:73-85.

317. Kim HJ, Cha J, Lee JM, Shin JS, Jung NY, Kim YJ, et al. Distinctive resting state network disruptions among Alzheimer's disease, subcortical vascular dementia, and mixed dementia patients. *J Alzheimer's Dis.* 2016;50(3):709-18.
318. Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED, Growdon ME, Jang JY, Rabinovici GD, et al. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain.* 2010;133(5):1352-67.
319. Petrella JR, Sheldon FC, Prince SE, Calhoun VD, Doraiswamy PM. Default mode network connectivity in stable vs progressive mild cognitive impairment. *Neurology.* 2011;76(6):511-7.
320. Brier MR, Thomas JB, Snyder AZ, Benzinger TL, Zhang D, Raichle ME, et al. Loss of intranetwork and internetwork resting state functional connections with Alzheimer's disease progression. *J Neurosci.* 2012;32(26):8890-9.
321. Leech R, Sharp DJ. The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease. *Brain.* 2014;137(1):12-32.
322. Damoiseaux JS, Prater KE, Miller BL, Greicius MD. Functional connectivity tracks clinical deterioration in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2012;33(4):828.e19-828.e30.
323. Das SR, Pluta J, Mancuso L, Kliot D, Orozco S, Dickerson BC, et al. Increased functional connectivity within medial temporal lobe in mild cognitive impairment. *Hippocampus.* 2013;23(1):1-6.
324. Yu E, Liao Z, Mao D, Zhang Q, Ji G, Li Y, et al. Directed functional connectivity of posterior cingulate cortex and whole brain in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res.* 2017;14(6):628-35.
325. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(13):4637-42.
326. Garcés P, Ángel Pineda-Pardo J, Canuet L, Aurtinetxe S, López ME, Marcos A, et al. The Default Mode Network is functionally and structurally disrupted in amnesic mild cognitive impairment-A bimodal MEG-DTI study. *NeuroImage Clin.* 2014;6:214-21.
327. Thomas JB, Brier MR, Bateman RJ, Snyder AZ, Benzinger TL, Xiong C, et al. Functional connectivity in autosomal dominant and late-onset Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* 2014;71(9):1111-22.
328. Machulda MM, Jones DT, Vemuri P, McDade E, Avula R, Przybelski S, et al. Effect of APOE  $\epsilon$ 4 status on intrinsic network connectivity in cognitively normal elderly subjects. *Arch Neurol.* 2011;68(9):1131-6.
329. Goveas JS, Xie C, Chen G, Li W, Ward BD, Franczak MB, et al. Functional network endophenotypes unravel the effects of apolipoprotein E epsilon 4 in middle-aged adults. He Y, editor. *PLoS One.* 2013;8(2):e55902.
330. Peterson AC, Li CSR. Noradrenergic dysfunction in Alzheimer's and Parkinson's Diseases-An overview of imaging studies. *Front Aging Neurosci.* 2018;10:127.
331. Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, Keller J, Glover GH, Kenna H, et al.

- Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *J Neurosci.* 2007;27(9):2349-56.
332. Sorg C, Riedl V, Mühlau M, Calhoun VD, Eichele T, Läer L, et al. Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(47):18760-5.
333. Adriaanse SM, Binnewijzend MAA, Ossenkoppele R, Tijms BM, Van Der Flier WM, Koene T, et al. Widespread disruption of functional brain organization in early-onset Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2014;9(7):e102995.
334. Gour N, Felician O, Didic M, Koric L, Gueriot C, Chanoine V, et al. Functional connectivity changes differ in early and late-onset Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp.* 2014;35(7):2978-94.
335. Quiroz YT, Schultz AP, Chen K, Protas HD, Brickhouse M, Fleisher AS, et al. Brain imaging and blood biomarker abnormalities in children with autosomal dominant Alzheimer disease a cross-sectional study. *JAMA Neurol.* 2015;72(8):912-9.
336. Chhatwal JP, Schultz AP, Johnson K, Benzinger TLS, Jack C, Ances BM, et al. Impaired default network functional connectivity in autosomal dominant Alzheimer disease. *Neurology.* 2013;81(8):736-44.
337. Seeley WW. The salience network: a neural system for perceiving and responding to homeostatic demands. *J Neurosci.* 2019;39(50):9878-82.
338. Sánchez SM, Abulafia C, Duarte-Abritta B, De Guevara MSL, Castro MN, Drucaroff L, 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. *J Alzheimer's Dis.* 2017;60(3):1183-93.
339. Wang L, Roe CM, Snyder AZ, Brier MR, Thomas JB, Xiong C, et al. Alzheimer disease family history impacts resting state functional connectivity. *Ann Neurol.* 2012;72(4):571-7.
340. Rashidi-Ranjbar N, Miranda D, Butters MA, Mulsant BH, Voineskos AN. Evidence for structural and functional alterations of frontal-executive and corticolimbic circuits in late-life depression and relationship to mild cognitive impairment and dementia: A systematic review. *Front Neurosci.* 2020;14:253.
341. Manning K, Wang L, Steffens D. Recent advances in the use of imaging in psychiatry: Functional magnetic resonance imaging of large-scale brain networks in late-life depression. *F1000Research.* 2019;8.
342. Brakowski J, Spinelli S, Dörig N, Bosch OG, Manoliu A, Holtforth MG, et al. Resting state brain network function in major depression – Depression symptomatology, antidepressant treatment effects, future research. *J Psychiatr Res.* 2017;92:147-59.
343. Castanheira L, Silva C, Cheniaux E, Telles-Correia D. Neuroimaging correlates of depression—implications to clinical practice. *Front Psychiatry.* 2019;10:703.
344. Small SA, Perera GM, DeLaPaz R, Mayeux R, Stern Y. Differential regional dysfunction of the hippocampal formation among elderly with memory decline and Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1999;45(4):466-72.

- 
345. Sperling RA, Bates JF, Chua EF, Cocchiarella AJ, Rentz DM, Rosen BR, et al. fMRI studies of associative encoding in young and elderly controls and mild Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(1):44-50.
346. Petrella JR, Wang L, Krishnan S, Slavin MJ, Prince SE, Tran TTT, et al. Cortical deactivation in mild cognitive impairment: High-field-strength functional MR imaging. *Radiology*. 2007;245(1):224-35.
347. Parra MA, Pattan V, Wong D, Beaglehole A, Lonie J, Wan HI, et al. Medial temporal lobe function during emotional memory in early Alzheimer's disease, mild cognitive impairment and healthy ageing: An fMRI study. *BMC Psychiatry*. 2013;13:76.
348. Trivedi MA, Murphy CM, Goetz C, Shah RC, Gabrieli JDE, Whitfield-Gabrieli S, et al. fMRI activation changes during successful episodic memory encoding and recognition in amnesic mild cognitive impairment relative to cognitively healthy older adults. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008;26(2):123-37.
349. Trivedi MA, Schmitz TW, Ries ML, Torgerson BM, Sager MA, Hermann BP, et al. Reduced hippocampal activation during episodic encoding in middle-aged individuals at genetic risk of Alzheimer's disease: A cross-sectional study. *BMC Med*. 2006;13(4):1.
350. Bassett SS, Yousem DM, Cristinzio C, Kusevic I, Yassa MA, Caffo BS, et al. Familial risk for Alzheimer's disease alters fMRI activation patterns. *Brain*. 2006;129(5):1229-39.
351. Theofilas P, Ehrenberg AJ, Nguy A, Thackrey JM, Dunlop S, Mejia MB, et al. Probing the correlation of neuronal loss, neurofibrillary tangles, and cell death markers across the Alzheimer's disease Braak stages: a quantitative study in humans. *Neurobiol Aging*. 2018;61:1-12.
352. Samuels E, Szabadi E. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function Part I: principles of functional organisation. *Curr Neuropharmacol*. 2008;6(3):235-53.
353. Moore RY, Bloom FE. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci*. 1979;2(1):113-68.
354. Bondareff W, Mountjoy CQ, Roth M, Rossor MN, Iversen LL, Reynolds GP, et al. Neuronal degeneration in locus ceruleus and cortical correlates of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1987;1(4):256-62.
355. Matthews KL, Chen CPLH, Esiri MM, Keene J, Minger SL, Francis PT. Noradrenergic changes, aggressive behavior, and cognition in patients with dementia. *Biol Psychiatry*. 2002;51:407-16.
356. Marcyniuk B, Mann DMA, Yates PO. The topography of cell loss from locus caeruleus in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 1986;76(2-3):335-45.
357. Tomlinson BE, Irving D, Blessed G. Cell loss in the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer type. *J Neurol Sci*. 1981;49(3):419-28.
358. Defeudis F V. Cholinergic systems and alzheimer's disease. *Drug Dev Res*. 1988;14(2):95-109.

## Referencias

---

359. Mann DMA, Lincoln J, Yates PO, Stamp JE, Toper S. Changes in the monoamine containing neurones of the human CNS in senile dementia. *Br J Psychiatry*. 1980;136:533-41.
360. Busch C, Bohl J, Ohm TG. Spatial, temporal and numeric analysis of Alzheimer changes in the nucleus coeruleus. *Neurobiol Aging*. 1997;18(4):401-6.
361. Grudzien A, Shaw P, Weintraub S, Bigio E, Mash DC, Mesulam MM. Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2007;28(3):327-35.
362. Šimić G, Babić Leko M, Wray S, Harrington CR, Delalle I, Jovanov-Milošević N, et al. Monoaminergic neuropathology in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2017;151:101-38.
363. Zweig RM, Ross CA, Hedreen JC, Steele C, Cardillo JE, Whitehouse PJ, et al. The neuropathology of aminergic nuclei in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1988;24(2):233-42.
364. Attems J, Thomas A, Jellinger K. Correlations between cortical and subcortical tau pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2012;38(6):582-90.
365. Chan-Palay V, Asan E. Quantitation of catecholamine neurons in the locus coeruleus in human brains of normal young and older adults and in depression. *J Comp Neurol*. 1989;287(3):357-72.
366. Chan-Palay V, Asan E. Alterations in catecholamine neurons of the locus coeruleus in senile dementia of the Alzheimer type and in Parkinson's disease with and without dementia and depression. *J Comp Neurol*. 1989;287(3):373-92.
367. German DC, White CL, Sparkman DR. Alzheimer's disease: neurofibrillary tangles in nuclei that project to the cerebral cortex. *Neuroscience*. 1987;21(2):305-12.
368. Iversen LL, Rossor MN, Reynolds GP, Hills R, Roth M, Mountjoy CQ, et al. Loss of pigmented dopamine- $\beta$ -hydroxylase positive cells from locus coeruleus in senile dementia of alzheimer's type. *Neurosci Lett*. 1983;39(1):95-100.
369. Mann DMA. The locus coeruleus and its possible role in ageing and degenerative disease of the human central nervous system. *Mech Ageing Dev*. 1983;23(1):73-94.
370. Pamphlett R, Kum Jew S. Different populations of human locus ceruleus neurons contain heavy metals or hyperphosphorylated tau: implications for amyloid- $\beta$  and tau pathology in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. 2015;45(2):437-47.
371. Bondareff W, Mountjoy CQ, Roth M. Loss of neurons of origin of the adrenergic projection to cerebral cortex (nucleus locus ceruleus) in senile dementia. *Neurology*. 1982;32(2):164-8.
372. German DC, Manaye KF, White CL, Woodward DJ, McIntire DD, Smith WK, et al. Disease-specific patterns of locus coeruleus cell loss. *Ann Neurol*. 1992;32(5):667-76.
373. Zubenko GS, Moossy J. Major Depression in Primary Dementia: Clinical and

- Neuropathologic Correlates. *Arch Neurol.* 1988;45(11):1182-6.
374. Ross JA, McGonigle P, Van Bockstaele EJ. Locus coeruleus, norepinephrine and A $\beta$  peptides in Alzheimer's disease. *Neurobiol Stress.* 2015;2:73-84.
375. Shimohama S, Taniguchi T, Fujiwara M, Kameyama M. Changes in  $\beta$ -adrenergic receptor subtypes in Alzheimer-type dementia. *J Neurochem.* 1987;48(4):1215-21.
376. Kalaria RN, Andorn AC, Tabaton M, Whitehouse PJ, Harik SI, Unnerstall JR. Adrenergic receptors in aging and Alzheimer's disease: increased  $\beta$ 2-receptors in prefrontal cortex and hippocampus. *J Neurochem.* 1989;53(6):1772-81.
377. Tejani-Butt SM, Yang J, Zaffar H. Norepinephrine transporter sites are decreased in the locus coeruleus in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1993;631(1):147-50.
378. Storga D, Vrecko K, Birkmayer JGD, Reibnegger G. Monoaminergic neurotransmitters, their precursors and metabolites in brains of Alzheimer patients. *Neurosci Lett.* 1996;203(1):29-32.
379. Kelly SC, He B, Perez SE, Ginsberg SD, Mufson EJ, Counts SE. Locus coeruleus cellular and molecular pathology during the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2017;5(1):8.
380. Borodovitsyna O, Flamini M, Chandler D. Noradrenergic modulation of cognition in health and disease. *Neural Plast.* 2017;2017:6031478.
381. Zarow C, Lyness SA, Mortimer JA, Chui HC. Neuronal loss is greater in the locus coeruleus than nucleus basalis and substantia nigra in Alzheimer and Parkinson diseases. *Arch Neurol.* 2003;60(3):337-41.
382. Ehrenberg AJ, Nguy AK, Thofilas P, Dunlop S, Suemoto CK, Di Lorenzo Alho AT, et al. Quantifying the accretion of hyperphosphorylated tau in the locus coeruleus and dorsal raphe nucleus: the pathological building blocks of early Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2017;43(5):393-408.
383. Lyness SA, Zarow C, Chui HC. Neuron loss in key cholinergic and aminergic nuclei in Alzheimer disease: A meta-analysis. *Neurobiol Aging.* 2003;24(1):1-23.
384. Satoh A, Iijima KM. Roles of tau pathology in the locus coeruleus (LC) in age-associated pathophysiology and Alzheimer's disease pathogenesis: Potential strategies to protect the LC against aging. *Brain Res.* 2019;1702:17-28.
385. Braak H, Braak E. Development of Alzheimer-related neurofibrillary changes in the neocortex inversely recapitulates cortical myelogenesis. *Acta Neuropathol.* 1996;92(2):197-201.
386. Braak H, Rüb U, Gai WP, Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: Possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J Neural Transm.* 2003;110(5):517-36.
387. Braak H, Del Tredici K. The preclinical phase of the pathological process underlying sporadic Alzheimer's disease. *Brain.* 2015;138(10):2814-33.
388. Pamphlett R. Uptake of environmental toxicants by the locus ceruleus: A

- potential trigger for neurodegenerative, demyelinating and psychiatric disorders. *Med Hypotheses*. 2014;82(1):97-104.
389. Pamphlett R, Kum Jew S. Inorganic mercury in human astrocytes, oligodendrocytes, corticomotoneurons and the locus ceruleus: implications for multiple sclerosis, neurodegenerative disorders and gliomas. *BioMetals*. 2018;31:807-19.
390. Simic G, Stanic G, Mladinov M, Jovanov-Milosevic N, Kostovic I, Hof PR. Does Alzheimer's disease begin in the brainstem?: Annotation. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2009;35(6):532-54.
391. Elferink MWO, Van Tilborg I, Kessels RPC. Perception of emotions in mild cognitive impairment and Alzheimer's dementia: Does intensity matter? *Transl Neurosci*. 2015;6(1):139-49.
392. Sterniczuk R, Dyck RH, Laferla FM, Antle MC. Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part 1. Circadian changes. *Brain Res*. 2010;1348:139-48.
393. Roh JH, Huang Y, Bero AW, Kasten T, Stewart FR, Bateman RJ, et al. Sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of amyloid- $\beta$  in mice with Alzheimer's disease pathology. *Sci Transl Med*. 2012;4(150):150.
394. Nazarali AJ, Reynolds GP. Monoamine neurotransmitters and their metabolites in brain regions in Alzheimer's disease: A postmortem study. *Cell Mol Neurobiol*. 1992;12(6):581-7.
395. Garcia-Alloza M, Gil-Bea FJ, Diez-Ariza M, Chen CPLH, Francis PT, Lasheras B, et al. Cholinergic-serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*. 2005;43(3):442-9.
396. Ramirez MJ, Lai MKP, Tordera RM, Francis PT. Serotonergic therapies for cognitive symptoms in Alzheimer's disease: Rationale and current status. *Drugs*. 2014;74(7):729-36.
397. Trillo L, Das D, Hsieh W, Medina B, Moghadam S, Lin B, et al. Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. *Translating basic science into clinical care. Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(8):1363-79.
398. Singh S. Noradrenergic pathways of locus coeruleus in Parkinson's and Alzheimer's pathology. *Int J Neurosci*. 2020;130(3):251-61.
399. Loughlin SE, Foote SL, Grzanna R. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: Morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience*. 1986;18(2):307-19.
400. Fallon JH, Koziell DA, Moore RY. Catecholamine innervation of the basal forebrain II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. *J Comp Neurol*. 1978;180(3):532.
401. Loughlin SE, Foote SL, Fallon JH. Locus coeruleus projections to cortex: topography, morphology and collateralization. *Brain Res Bull*. 1982;9(1-6):287-94.
402. Lewis DA, Melchitzky DS, Sesack SR, Whitehead RE, Auh S, Sampson A.

- Dopamine transporter immunoreactivity in monkey cerebral cortex: Regional, laminar, and ultrastructural localization. *J Comp Neurol.* 2001;432(1):119-36.
403. Schwarz LA, Luo L. Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. *Curr Biol.* 2015;25(21):R1051-6.
404. Iba M, Guo JL, McBride JD, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VMY. Synthetic tau fibrils mediate transmission of neurofibrillary tangles in a transgenic mouse model of Alzheimer's-like tauopathy. *J Neurosci.* 2013;33(3):1024-37.
405. Iba M, McBride JD, Guo JL, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VMY. Tau pathology spread in PS19 tau transgenic mice following locus coeruleus (LC) injections of synthetic tau fibrils is determined by the LC's afferent and efferent connections. *Acta Neuropathol.* 2015;130(3):349-62.
406. Ardestani PM, Evans AK, Yi B, Nguyen T, Coutellier L, Shamloo M. Modulation of neuroinflammation and pathology in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease using a biased and selective beta-1 adrenergic receptor partial agonist. *Neuropharmacology.* 2017;116:371-86.
407. Heneka MT, Ramanathan M, Jacobs AH, Dumitrescu-Ozimek L, Bilkei-Gorzo A, Debeir T, et al. Locus ceruleus degeneration promotes Alzheimer pathogenesis in amyloid precursor protein 23 transgenic mice. *J Neurosci.* 2006;26(5):1343-54.
408. Heneka MT, Nadrigny F, Regen T, Martinez-Hernandez A, Dumitrescu-Ozimek L, Terwel D, et al. Locus ceruleus controls Alzheimer's disease pathology by modulating microglial functions through norepinephrine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(13):6058-63.
409. Kalinin S, Gavriluk V, Polak PE, Vasser R, Zhao J, Heneka MT, et al. Noradrenaline deficiency in brain increases  $\beta$ -amyloid plaque burden in an animal model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2007;28(8):1206-14.
410. Branca C, Wisely E V., Hartman LK, Caccamo A, Oddo S. Administration of a selective  $\beta_2$  adrenergic receptor antagonist exacerbates neuropathology and cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2014;35(12):2726-35.
411. Marien MR, Colpaert FC, Rosenquist AC. Noradrenergic mechanisms in neurodegenerative diseases: a theory. *Brain Res Rev.* 2004;45(1):38-78.
412. Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: Functional organization and potential clinical significance. *Neurology.* 2009;73(20):1699-704.
413. Gannon M, Wang Q. Complex noradrenergic dysfunction in Alzheimer's disease: Low norepinephrine input is not always to blame. *Brain Res.* 2019;1702:12-6.
414. Bekar LK, Wei HS, Nedergaard M. The locus coeruleus-norepinephrine network optimizes coupling of cerebral blood volume with oxygen demand. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32(12):2135-45.
415. Giorgi FS, Saccaro LF, Galgani A, Busceti CL, Biagioni F, Frati A, et al. The role of Locus Coeruleus in neuroinflammation occurring in Alzheimer's disease. *Brain Res Bull.* 2019;153:47-58.

416. Feinstein DL, Heneka MT. Potentiation of  $\beta$ -amyloid-induced cortical inflammation by noradrenaline and noradrenergic depletion: implications for Alzheimer's disease. En: *Noradrenergic Signaling and Astroglia*. Elsevier Inc.; 2017. p. 301-11.
417. Mandrekar-Colucci S, Landreth GE. Microglia and inflammation in Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord - Drug Targets*. 2012;9(2):156-67.
418. Heneka MT, Gavriluk V, Landreth GE, O'Banion MK, Weinberg G, Feinstein DL. Noradrenergic depletion increases inflammatory responses in brain: Effects on I $\kappa$ B and HSP70 expression. *J Neurochem*. 2003;85(2):387-98.
419. Cunningham C, Champion S, Lunnon K, Murray CL, Woods JFC, Deacon RMJ, et al. Systemic inflammation induces acute behavioral and cognitive changes and accelerates neurodegenerative disease. *Biol Psychiatry*. 2009;65(4):304-12.
420. Sil S, Ghosh T. Role of cox-2 mediated neuroinflammation on the neurodegeneration and cognitive impairments in colchicine induced rat model of Alzheimer's Disease. *J Neuroimmunol*. 2016;291:115-24.
421. Singhal G, Jaehne EJ, Corrigan F, Toben C, Baune BT. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: A focused review. *Front Neurosci*. 2014;8:1-22.
422. Kong Y, Ruan L, Qian L, Liu X, Le Y. Norepinephrine promotes microglia to uptake and degrade amyloid  $\beta$  peptide through upregulation of mouse formyl peptide receptor 2 and induction of insulin-degrading enzyme. *J Neurosci*. 2010;30(35):11848-57.
423. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, et al. Decreased clearance of CNS  $\beta$ -amyloid in Alzheimer's disease. *Science*. 2010;330(6012):1774.
424. Chalermphanupap T, Kinkead B, Hu WT, Kummer MP, Hammerschmidt T, Heneka MT, et al. Targeting norepinephrine in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther*. 2013;5(2):21.
425. Harik SI, McGunigal T. The protective influence of the locus ceruleus on the blood-brain barrier. *Ann Neurol*. 1984;15(6):568-74.
426. Kalinin S, Feinstein DL, Xu HL, Huesa G, Pelligrino DA, Galea E. Degeneration of noradrenergic fibres from the locus coeruleus causes tight-junction disorganisation in the rat brain. *Eur J Neurosci*. 2006;24(12):3393-400.
427. Weinshenker D. Long road to ruin: noradrenergic dysfunction in neurodegenerative disease. *Trends Neurosci*. 2018;41(4):211-23.
428. Braun DJ, Kalinin S, Feinstein DL. Conditional depletion of hippocampal brain-derived neurotrophic factor exacerbates neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *ASN Neuro*. 2017;9(2):1-14.
429. Song JH, Yu JT, Tan L. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy. *Mol Neurobiol*. 2015;52(3):1477-93.
430. Jhang KA, Lee EO, Kim HS, Chong YH. Norepinephrine provides short-term neuroprotection against A $\beta$ 1-42 by reducing oxidative stress independent of Nrf2

- activation. *Neurobiol Aging*. 2014;35(11):2465-73.
431. Kayama Y, Koyama Y. Control of sleep and wakefulness by brainstem monoaminergic and cholinergic neurons. *Acta Neurochir Suppl*. 2003;87(87):3-6.
  432. Devilbiss DM, Page ME, Waterhouse BD. Locus ceruleus regulates sensory encoding by neurons and networks in waking animals. *J Neurosci*. 2006;26(39):9860-72.
  433. Devilbiss DM, Waterhouse BD. The effects of tonic locus ceruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J Neurosci*. 2004;24(48):10773-85.
  434. Berridge CW, Page ME, Valentino RJ, Foote SL. Effects of locus coeruleus inactivation on electroencephalographic activity in neocortex and hippocampus. *Neuroscience*. 1993;55(2):381-93.
  435. Page ME, Berridge CW, Foote SL, Valentino RJ. Corticotropin-releasing factor in the locus coeruleus mediates EEG activation associated with hypotensive stress. *Neurosci Lett*. 1993;164(1-2):81-4.
  436. Vazey EM, Aston-Jones G. Designer receptor manipulations reveal a role of the locus coeruleus noradrenergic system in isoflurane general anesthesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(10):3859-64.
  437. Berridge CW, Waterhouse BD. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev*. 2003;42(1):33-84.
  438. Cain RE, Wasserman MC, Waterhouse BD, McGaughy JA. Atomoxetine facilitates attentional set shifting in adolescent rats. *Dev Cogn Neurosci*. 2011;1(4):552-9.
  439. McGaughy J, Ross RS, Eichenbaum H. Noradrenergic, but not cholinergic, deafferentation of prefrontal cortex impairs attentional set-shifting. *Neuroscience*. 2008;153(1):63-71.
  440. Hansen N, Manahan-Vaughan D. Locus coeruleus stimulation facilitates long-term depression in the dentate gyrus that requires activation of  $\beta$ -adrenergic receptors. *Cereb Cortex*. 2015;25(7):1889-96.
  441. Schutsky K, Ouyang M, Castelino CB, Zhang L, Thomas SA. Stress and glucocorticoids impair memory retrieval via  $\beta$  2-adrenergic, G i/o-coupled suppression of cAMP signaling. *J Neurosci*. 2011;31(40):14172-81.
  442. Schutsky K, Ouyang M, Thomas SA. Xamoterol impairs hippocampus-dependent emotional memory retrieval via Gi/o-coupled  $\beta$ 2-adrenergic signaling. *Learn Mem*. 2011;18(9):598-604.
  443. Zhang L, Ouyang M, Robin Ganellin C, Thomas SA. The slow afterhyperpolarization: A target of  $\beta$ 1-adrenergic signaling in hippocampus-dependent memory retrieval. *J Neurosci*. 2013;33(11):5006-16.
  444. Newman LA, Darling J, McGaughy J. Atomoxetine reverses attentional deficits produced by noradrenergic deafferentation of medial prefrontal cortex.

- Psychopharmacology (Berl). 2008;200(1):39-50.
445. Navarra RL, Clark BD, Gargiulo AT, Waterhouse BD. Methylphenidate enhances early-stage sensory processing and rodent performance of a visual signal detection task. *Neuropsychopharmacology*. 2017;42(6):1326-37.
446. Navarra RL, Clark BD, Zitnik GA, Waterhouse BD. Methylphenidate and atomoxetine enhance sensory-evoked neuronal activity in the visual thalamus of male rats. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2013;21(5):363-74.
447. Aston-Jones G, Cohen JD. Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance. *J Comp Neurol*. 2005;493(1):99-110.
448. Bouret S, Sara SJ. Network reset: A simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci*. 2005;28(11):574-82.
449. Sara SJ. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(3):211-23.
450. Sara SJ, Bouret S. Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron*. 2012;76(1):130-41.
451. Hagen H, Hansen N, Manahan-Vaughan D.  $\beta$ -adrenergic control of hippocampal function: subserving the choreography of synaptic information storage and memory. *Cereb Cortex*. 2016;26(4):1349-64.
452. Weinshenker D. Functional consequences of locus coeruleus degeneration in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2008;5(3):342-5.
453. Hammerschmidt T, Kummer MP, Terwel D, Martinez A, Gorji A, Pape HC, et al. Selective loss of noradrenaline exacerbates early cognitive dysfunction and synaptic deficits in APP/PS1 mice. *Biol Psychiatry*. 2013;73(5):454-63.
454. Rey NL, Jardanhazi-Kurutz D, Terwel D, Kummer MP, Jourdan F, Didier A, et al. Locus coeruleus degeneration exacerbates olfactory deficits in APP/PS1 transgenic mice. *Neurobiol Aging*. 2012;33(2):1-11.
455. Zhao Z, Zhang HT, Bootzin E, Millan MJ, O'Donnell JM. Association of changes in norepinephrine and serotonin transporter expression with the long-term behavioral effects of antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(6):1467-81.
456. McMillan PJ, White SS, Franklin A, Greenup JL, Leverenz JB, Raskind MA, et al. Differential response of the central noradrenergic nervous system to the loss of locus coeruleus neurons in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Brain Res*. 2011;1373:240-52.
457. Takeuchi T, Duszkiwicz AJ, Sonneborn A, Spooner PA, Yamasaki M, Watanabe M, et al. Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory. *Nature*. 2016;537(7620):357-62.
458. Ouyang M, Young MB, Lestini MM, Schutsky K, Thomas SA. Redundant catecholamine signaling consolidates fear memory via phospholipase C. *J Neurosci*. 2012;32(6):1932-41.

459. Coradazzi M, Gulino R, Fieramosca F, Falzacappa LV, Riggi M, Leanza G. Selective noradrenaline depletion impairs working memory and hippocampal neurogenesis. *Neurobiol Aging*. 2016;48:93-102.
460. Hansen N. The longevity of hippocampus-dependent memory is orchestrated by the locus coeruleus-noradrenergic system. *Neural Plast*. 2017;2017:2727602.
461. Jonsson G, Hallman H, Ponzio F, Ross S. DSP4 (N-(2-chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine)-A useful denervation tool for central and peripheral noradrenaline neurons. *Eur J Pharmacol*. 1981;72(2-3):173-88.
462. Ross SB. Long-term effects of N-2-chloroethyl-N-ethyl-2-bromobenzylamine hydrochloride on noradrenergic neurones in the rat brain and heart. *Br J Pharmacol*. 1976;58(4):521-7.
463. Moreno-Castilla P, Pérez-Ortega R, Violante-Soria V, Balderas I, Bermúdez-Rattoni F. Hippocampal release of dopamine and norepinephrine encodes novel contextual information. *Hippocampus*. 2017;27(5):547-57.
464. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia A-S, McNamara JO, et al. *Neuroscience*. 3rd ed. Sinauer. 2004.
465. Squire LR, Bloom FE, Spitzer NC, du Lac S, Ghosh A, Darwin B. *Fundamental Neuroscience*. 3rd ed. Elsevier. 2008.
466. Weikop P, Yoshitake T, Kehr J. Differential effects of adjunctive methylphenidate and citalopram on extracellular levels of serotonin, noradrenaline and dopamine in the rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2007;17(10):658-71.
467. Verster JC, Bekker EM, Kooij JJS, Buitelaar JK, Verbaten MN, Volkerts ER, et al. Methylphenidate significantly improves declarative memory functioning of adults with ADHD. *Psychopharmacology (Berl)*. 2010;212(2):277-81.
468. Linssen AMW, Vuurman EFPM, Sambeth A, Riedel WJ. Methylphenidate produces selective enhancement of declarative memory consolidation in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012;221(4):611-9.
469. Izquierdo I, Bevilacqua LR, Rossato JI, Lima RH, Medina JH, Cammarota M. Age-dependent and age-independent human memory persistence is enhanced by delayed posttraining methylphenidate administration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(49):19504-7.
470. Kline RL, Zhang S, Farr OM, Hu S, Zaborszky L, Samanez-Larkin GR, et al. The effects of methylphenidate on resting-state functional connectivity of the basal nucleus of Meynert, locus coeruleus, and ventral tegmental area in healthy adults. *Front Hum Neurosci*. 2016;10(149):149.
471. Kempadoo KA, Mosharov E V., Choi SJ, Sulzer D, Kandel ER. Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(51):14835-40.
472. Dahl MJ, Mather M, Düzel S, Bodammer NC, Lindenberger U, Kühn S, et al. Rostral locus coeruleus integrity is associated with better memory performance in older adults. *Nat Hum Behav*. 2019;3(11):1203-14.

473. Braak E, Braak H, Mandelkow EM. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol.* 1994;87(6):554-67.
474. Jacobs HIL, Wiese S, van de Ven V, Gronenschild EHBM, Verhey FRJ, Matthews PM. Relevance of parahippocampal-locus coeruleus connectivity to memory in early dementia. *Neurobiol Aging.* 2015;36(2):618-26.
475. Coull JT, Büchel C, Friston KJ, Frith CD. Noradrenergically mediated plasticity in a human attentional neuronal network. *Neuroimage.* 1999;10(6):705-15.
476. Robbins TW. From arousal to cognition: The integrative position of the prefrontal cortex. *Prog Brain Res.* 2000;126:469-83.
477. Zerbi V, Floriou-Servou A, Markicevic M, Vermeiren Y, Sturman O, Privitera M, et al. Rapid reconfiguration of the functional connectome after chemogenetic locus coeruleus activation. *Neuron.* 2019;103(4):702-18.
478. Aston-Jones G, Bloom FE. Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J Neurosci.* 1981;1(8):887-900.
479. Foote SL, Aston-Jones G, Bloom FE. Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980;77(5):3033-7.
480. Grant SJ, Aston-Jones G, Redmond DE. Responses of primate locus coeruleus neurons to simple and complex sensory stimuli. *Brain Res Bull.* 1988;21(3):401-10.
481. Foote SL, Morrison JH. Extrathalamic modulation of cortical function. *Annu Rev Neurosci.* 1987;10:67-95.
482. Clayton EC, Rajkowski J, Cohen JD, Aston-Jones G. Phasic activation of monkey locus coeruleus neurons by simple decisions in a forced-choice task. *J Neurosci.* 2004;24(44):9914-20.
483. Aston-Jones G, Foote SL, Segal M. Impulse conduction properties of noradrenergic locus coeruleus axons projecting to monkey cerebrocortex. *Neuroscience.* 1985;15(3):765-77.
484. Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P, Alexinsky T. Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J Neurosci.* 1994;14(7):4467-80.
485. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci.* 2005;28(1):403-50.
486. Mountcastle VB, LaMotte RH, Carli G. Detection thresholds for stimuli in humans and monkeys: comparison with threshold events in mechanoreceptive afferent nerve fibers innervating the monkey hand. *J Neurophysiol.* 1972;35(1):122-36.
487. Manaye KF, McIntire DD, Mann DMA, German DC. Locus coeruleus cell loss in the aging human brain: A non-random process. *J Comp Neurol.* 1995;358:79-87.

488. Betts MJ, Cardenas-Blanco A, Kanowski M, Jessen F, Düzel E. In vivo MRI assessment of the human locus coeruleus along its rostrocaudal extent in young and older adults. *Neuroimage*. 2017;163:150-9.
489. German DC, Walker BS, Manaye K, Smith WK, Woodward DJ, North AJ. The human locus coeruleus: Computer reconstruction of cellular distribution. *J Neurosci*. 1988;8(5):1776-88.
490. Shibata E, Sasaki M, Tohyama K, Kanbara Y, Otsuka K, Ehara S, et al. Age-related changes in locus ceruleus on neuromelanin magnetic resonance imaging at 3 Tesla. *Magn Reson Med Sci*. 2006;5(4):197-200.
491. Baumann B, Danos P, Krell D, Diekmann S, Wurthmann C, Biela H, et al. Unipolar-bipolar dichotomy of mood disorders is supported by noradrenergic brainstem system morphology. *J Affect Disord*. 1999;54(1-2):217-24.
492. Arendt T, Brückner MK, Morawski M, Jäger C, Gertz HJ. Early neurone loss in Alzheimer's disease: cortical or subcortical? *Acta Neuropathol Commun*. 2015;3(1):10.
493. Theofilas P, Ehrenberg AJ, Dunlop S, Di Lorenzo Alho AT, Nguy A, Leite REP, et al. Locus coeruleus volume and cell population changes during Alzheimer's disease progression: A stereological study in human postmortem brains with potential implication for early-stage biomarker discovery. *Alzheimer's Dement*. 2017;13(3):236-46.
494. Andrés-Benito P, Fernández-Dueñas V, Carmona M, Escobar LA, Torrejón-Escribano B, Aso E, et al. Locus coeruleus at asymptomatic early and middle Braak stages of neurofibrillary tangle pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2017;43(5):373-92.
495. Bowrey HE, James MH, Aston-Jones G. New directions for the treatment of depression: Targeting the photic regulation of arousal and mood (PRAM) pathway. *Depress Anxiety*. 2017;34(7):588-95.
496. Morgese MG, Trabace L. Monoaminergic system modulation in depression and Alzheimer's disease: A new standpoint? *Front Pharmacol*. 2019;10:483.
497. Post MR, Lieberman OJ, Mosharov E V. Can interactions between  $\alpha$ -synuclein, dopamine and calcium explain selective neurodegeneration in Parkinson's disease? *Front Neurosci*. 2018;12:161.
498. Szot P, Franklin A, Miguelez C, Wang Y, Vidaurrazaga I, Ugedo L, et al. Depressive-like behavior observed with a minimal loss of locus coeruleus (LC) neurons following administration of 6-hydroxydopamine is associated with electrophysiological changes and reversed with precursors of norepinephrine. *Neuropharmacology*. 2016;101:76-86.
499. Harro J, Pähkla R, Modiri AR, Harro M, Kask A, Oreland L. Dose-dependent effects of noradrenergic denervation by DSP-4 treatment on forced swimming and  $\beta$ -adrenoceptor binding in the rat. *J Neural Transm*. 1999;106(7-8):619-29.
500. Cornwell-Jones CA, Palfai T, Krasenbaum D, Byer E, Clark R, Kinnard K. Housing influences exploration and social interaction of control and DSP-4-treated rats. *Physiol Behav*. 1992;52(2):271-6.

501. van den Buuse M, Lambert G, Fluttert M, Eikelis N. Cardiovascular and behavioural responses to psychological stress in spontaneously hypertensive rats: effect of treatment with DSP-4. *Behav Brain Res.* 2001;119(2):131-42.
502. Kitayama IT, Otani M, Murase S. Degeneration of the locus ceruleus noradrenergic neurons in the stress-induced depression of rats. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1148(1):95-8.
503. Gonzalez MMC, Aston-Jones G. Light deprivation damages monoamine neurons and produces a depressive behavioral phenotype in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(12):4898-903.
504. Arango V, Underwood MD, Mann JJ. Fewer pigmented locus coeruleus neurons in suicide victims: Preliminary results. *Biol Psychiatry.* 1996;39(2):112-20.
505. Bernard R, Kerman IA, Thompson RC, Jones EG, Bunney WE, Barchas JD, et al. Altered expression of glutamate signaling, growth factor, and glia genes in the locus coeruleus of patients with major depression. *Mol Psychiatry.* 2011;16(6):634-46.
506. Zhu MY, Klimek V, Dilley GE, Haycock JW, Stockmeier C, Overholser JC, et al. Elevated levels of tyrosine hydroxylase in the locus coeruleus in major depression. *Biol Psychiatry.* 1999;46(9):1275-86.
507. Klimek V, Stockmeier C, Overholser J, Meltzer HY, Kalka S, Dilley G, et al. Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression. *J Neurosci.* 1997;17(21):8451-8.
508. Shibata E, Sasaki M, Tohyama K, Otsuka K, Endoh J, Terayama Y, et al. Use of neuromelanin-sensitive MRI to distinguish schizophrenic and depressive patients and healthy individuals based on signal alterations in the substantia nigra and locus coeruleus. *Biol Psychiatry.* 2008;64(5):401-6.
509. Sasaki M, Shibata E, Ohtsuka K, Endoh J, Kudo K, Narumi S, et al. Visual discrimination among patients with depression and schizophrenia and healthy individuals using semiquantitative color-coded fast spin-echo T1-weighted magnetic resonance imaging. *Neuroradiology.* 2010;52(2):83-9.
510. Shibata E, Sasaki M, Tohyama K, Otsuka K, Sakai A. Reduced signal of locus coeruleus in depression in quantitative neuromelanin magnetic resonance imaging. *Neuroreport.* 2007;18(5):415-8.
511. Liebe T, Li M, Colic L, Munk MHJ, Sweeney-Reed CM, Woelfer M, et al. Ketamine influences the locus coeruleus norepinephrine network, with a dependency on norepinephrine transporter genotype – a placebo controlled fMRI study. *NeuroImage Clin.* 2018;20:715-23.
512. Takahashi J, Shibata T, Sasaki M, Kudo M, Yanezawa H, Obara S, et al. Detection of changes in the locus coeruleus in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: High-resolution fast spin-echo T1-weighted imaging. *Geriatr Gerontol Int.* 2015;15(3):334-40.
513. Betts MJ, Cardenas-Blanco A, Kanowski M, Spottke A, Teipel SJ, Kilimann I, et al. Locus coeruleus MRI contrast is reduced in Alzheimer's disease dementia and correlates with CSF A $\beta$  levels. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit.* 2019;11:281-5.

514. Olivieri P, Lagarde J, Lehericy S, Valabrègue R, Michel A, Macé P, et al. Early alteration of the locus coeruleus in phenotypic variants of Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(7):1345-51.
515. Clewett D V., Lee TH, Greening S, Ponzio A, Margalit E, Mather M. Neuromelanin marks the spot: identifying a locus coeruleus biomarker of cognitive reserve in healthy aging. *Neurobiol Aging.* 2016;37:117-26.
516. Zhang S, Hu S, Chao HH, Li CSR. Resting-state functional connectivity of the locus coeruleus in humans: in comparison with the ventral tegmental area/substantia nigra pars compacta and the effects of age. *Cereb Cortex.* 2016;26(8):3413-27.
517. Bär KJ, De la Cruz F, Schumann A, Koehler S, Sauer H, Critchley H, et al. Functional connectivity and network analysis of midbrain and brainstem nuclei. *Neuroimage.* 2016;134:53-63.
518. Li CSR, Yan P, Bergquist KL, Sinha R. Greater activation of the «default» brain regions predicts stop signal errors. *Neuroimage.* 2007;38(3):640-8.
519. Zhang S, Li CR. A neural measure of behavioral engagement: Task-residual low-frequency blood oxygenation level-dependent activity in the precuneus. *Neuroimage.* 2010;49(2):1911-8.
520. Zhang S, Li CR. Functional connectivity mapping of the human precuneus by resting state fMRI. *Neuroimage.* 2012;59(4):3548-62.
521. Zhang S, Li CR. Task-related, low-frequency task-residual, and resting state activity in the default mode network brain regions. *Front Psychol.* 2012;3:172.
522. Liu KY, Marijatta F, Hämmerer D, Acosta-Cabronero J, Düzel E, Howard RJ. Magnetic resonance imaging of the human locus coeruleus: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2017.
523. Krebs RM, Park HRP, Bombeke K, Boehler CN. Modulation of locus coeruleus activity by novel oddball stimuli. *Brain Imaging Behav.* 2018;12(2):577-84.
524. Krebs RM, Fias W, Achten E, Boehler CN. Picture novelty attenuates semantic interference and modulates concomitant neural activity in the anterior cingulate cortex and the locus coeruleus. *Neuroimage.* 2013;74:179-87.
525. Liddell BJ, Brown KJ, Kemp AH, Barton MJ, Das P, Peduto A, et al. A direct brainstem-amygdala-cortical «alarm» system for subliminal signals of fear. *Neuroimage.* 2005;24(1):235-43.
526. Brooks JCW, Davies WE, Pickering AE. Resolving the brainstem contributions to attentional analgesia. *J Neurosci.* 2017;37(9):2279-91.
527. Gilam G, Lin T, Fruchter E, Hendler T. Neural indicators of interpersonal anger as cause and consequence of combat training stress symptoms. *Psychol Med.* 2017;47(9):1561-72.
528. Neufang S, Geiger MJ, Homola GA, Mahr M, Akhrif A, Nowak J, et al. Modulation of prefrontal functioning in attention systems by NPSR1 gene variation. *Neuroimage.* 2015;114:199-206.

529. Lee TH, Greening SG, Ueno T, Clewett D, Ponzio A, Sakaki M, et al. Arousal increases neural gain via the locus coeruleus-noradrenaline system in younger adults but not in older adults. *Nat Hum Behav.* 2018;2(5):356-66.
530. Murphy PR, O'Connell RG, O'Sullivan M, Robertson IH, Balsters JH. Pupil diameter covaries with BOLD activity in human locus coeruleus. *Hum Brain Mapp.* 2014;35(8):4140-54.
531. Gilzenrat MS, Nieuwenhuis S, Jepma M, Cohen JD. Pupil diameter tracks changes in control state predicted by the adaptive gain theory of locus coeruleus function. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2010;10(2):252-69.
532. Granholm EL, Panizzon MS, Elman JA, Jak AJ, Hauger RL, Bondi MW, et al. Pupillary responses as a biomarker of early risk for Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis.* 2017;56(4):1419-28.
533. Elman JA, Panizzon MS, Hagler DJ, Eyler LT, Granholm EL, Fennema-Notestine C, et al. Task-evoked pupil dilation and BOLD variance as indicators of locus coeruleus dysfunction. *Cortex.* 2017;97:60-9.
534. Hämmerer D, Callaghan MF, Hopkins A, Kosciessa J, Betts M, Cardenas-Blanco A, et al. Locus coeruleus integrity in old age is selectively related to memories linked with salient negative events. *Proc Natl Acad Sci.* 2018;115(9):2228-33.
535. Cummings J, Reiber C, Kumar P. The price of progress: Funding and financing Alzheimer's disease drug development. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv.* 2018;4:330-43.
536. Galson S, Austin CP, Khandekar E, Hudson LD, DiMasi JA, Califf R, et al. The failure to fail smartly. *Nat Rev Drug Discov.* 2020;
537. Serra L, D'Amelio M, Di Domenico C, Dipasquale O, Marra C, Mercuri NB, et al. In vivo mapping of brainstem nuclei functional connectivity disruption in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2018;72:72-82.
538. Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry.* 1982;140(6):566-72.
539. Schmidt M. *Rey Auditory Verbal Learning Test: a handbook.* Los Angeles, CA: Western Psychological Services; 1996.
540. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders.* 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 2002.
541. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med.* 2004;256(3):183-94.
542. Wechsler D. *Wechsler Memory Scale - Third Edition (WAIS-III).* 3rd ed. The Psychological Corporation; 1997.
543. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1961;4:561-71.
544. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960;23:56-62.

- 
545. Martínez de la Iglesia J, Onís Vilches MC, Dueñas Herrero R, Albert Colomer C, Aguado Taberné C, Luque Luque R. The Spanish version of the Yesavage abbreviated questionnaire (GDS) to screen depressive dysfunctions in patients older than 65 years. *MEDIFAM*. 2002;12:620-30.
546. Sclan SG, Reisberg B. Functional Assessment Staging (FAST) in Alzheimer's disease: reliability, validity, and ordinality. *Int Psychogeriatrics*. 1992;4(3):55-69.
547. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. «Mini-mental state». A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-98.
548. Arango-Lasprilla JC, Rivera D, Ramos-Usuga D, Vergara-Moragues E, Montero-López E, Adana Díaz LA, et al. Trail Making Test: normative data for the Latin American Spanish-speaking pediatric population. *NeuroRehabilitation*. 2017;41(3):627-37.
549. Scarpina F, Tagini S. The stroop color and word test. *Front Psychol*. 2017;8:557.
550. Shallice T. Specific impairments of planning. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1982;298(1089):199-209.
551. Kaplan EF, Goodglass H, Weintraub S. The Boston Naming Test. Philadelphia Lea Febiger. 1983;
552. Wechsler D. Wechsler adult intelligence scale—Fourth Edition (WAIS—IV). San Antonio. 2008.
553. Peña-Casanova J, Guardia-Olmos J, Jarne-Esparcia A, Böhm P. Test Barcelona abreviado: desarrollo, puntuación global y validación. En: Normalidad, semiología y patología neuropsicológicas. 2ª ed. Barcelona: Masson SpA; 2005. p. 33-48.
554. Corsi PM. Human memory and the medial temporal region of the brain. McGill University; 1972.
555. Alegret M, Espinosa A, Vinyes-Junqué G, Valero S, Hernández I, Tárraga L, et al. Normative data of a brief neuropsychological battery for Spanish individuals older than 49. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2012;34(2):209-19.
556. Smith A. Symbol Digit Modalities Test. Los Angeles, CA: Western Psychological Services; 1973.
557. De Renzi E, Faglioni P. Normative data and screening power of a shortened version of the Token Test. *Cortex*. 1978;14(1):41-9.
558. Pillon B, Dubois B, Bonnet AM, Esteguy M, Guimaraes J, Vigouret JM, et al. Cognitive slowing in Parkinson's disease fails to respond to levodopa treatment: The 15-objects test. *Neurology*. 1989;39(6):762-8.
559. Khitrov MY, Laxminarayan S, Thorsley D, Ramakrishnan S, Rajaraman S, Wesensten NJ, et al. PC-PVT: A platform for psychomotor vigilance task testing, analysis, and prediction. *Behav Res Methods*. 2014;46:140-7.
560. Conners KK, Epstein JN, Angold A, Klaric J. Continuous performance test

- performance in a normative epidemiological sample. *J Abnorm Child Psychol.* 2003;
561. Fillmore MT, Rush CR, Hays L. Acute effects of cocaine in two models of inhibitory control: Implications of non-linear dose effects. *Addiction.* 2006;101(9):1323-32.
562. Huettel SA, Song AW, McCarthy G. *Functional Magnetic Resonance Imaging.* 2nd ed. Sunderland, Massachusetts USA: Sinauer; 2008.
563. Kuperman V. *Magnetic Resonance Imaging.* San Diego, USA: Academic Press; 2000.
564. Buxton RB. *Introduction to functional magnetic resonance imaging: Principles and techniques.* 2nd ed. *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques.* New York, USA: Cambridge University Press; 2009.
565. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(24):9868-72.
566. Biswal B, Zerrin Yetkin F, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. *Magn Reson Med.* 1995;34(4):537-41.
567. Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8:700-11.
568. Martuzzi R, Ramani R, Qiu M, Shen X, Papademetris X, Constable RT. A whole-brain voxel based measure of intrinsic connectivity contrast reveals local changes in tissue connectivity with anesthetic without a priori assumptions on thresholds or regions of interest. *Neuroimage.* 2011;58(4):1044-50.
569. Watanabe T, Tan Z, Wang X, Martinez-Hernandez A, Frahm J. Magnetic resonance imaging of noradrenergic neurons. *Brain Struct Funct.* 2019;224(4):1609-25.
570. Langley J, Huddleston DE, Chen X, Sedlacik J, Zachariah N, Hu X. A multicontrast approach for comprehensive imaging of substantia nigra. *Neuroimage.* 2015;112:7-13.
571. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 1965;122(5):509-22.
572. Leonard BE. The role of noradrenaline in depression: A review. *J Psychopharmacol.* 1997;11(4 Suppl):S39-47.
573. Werner FM, Coveñas R. Classical neurotransmitters and neuropeptides involved in major depression: A review. *Int J Neurosci.* 2010;120:455-70.
574. Nutt D, Demyttenaere K, Janka Z, Aarre T, Bourin M, Canonico PL, et al. The other face of depression, reduced positive affect: The role of catecholamines in causation and cure. *J Psychopharmacol.* 2007;21(5):461-71.
575. Ressler KJ, Nemeroff CB. Role of norepinephrine in the pathophysiology and

- treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry*. 1999;46(9):1219-33.
576. Brunello N, Mendlewicz J, Kasper S, Leonard B, Montgomery S, Nelson JC, et al. The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2002;12:461-75.
577. Wagner G, De La Cruz F, Köhler S, Bär KJ. Treatment associated changes of functional connectivity of midbrain/brainstem nuclei in major depressive disorder. *Sci Rep*. 2017;7:8675.
578. Kitayama I, Nakamura S, Yaga T, Murase S, Nomura J, Kayahara T, et al. Degeneration of locus coeruleus axons in stress-induced depression model. *Brain Res Bull*. 1994;35:573-80.
579. Brady LS. Stress, antidepressant drugs, and the locus coeruleus. *Brain Res Bull*. 1994;35(5-6):545-56.
580. Ye R, Rua C, O'Callaghan C, Simon Jones P, Hezemans FH, Kaalund SS, et al. An in vivo probabilistic atlas of the human locus coeruleus at ultra-high field. *Neuroimage*. 2020;225:117487.
581. Keren NI, Lozar CT, Harris KC, Morgan PS, Eckert MA. In vivo mapping of the human locus coeruleus. *Neuroimage*. 2009;47(4):1261-7.
582. Westlund KN, Coulter JD. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport studies and dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry. *Brain Res*. 1980;2(3):235-64.
583. Song AH, Kucyi A, Napadow V, Brown EN, Loggia ML, Akeju O. Pharmacological modulation of noradrenergic arousal circuitry disrupts functional connectivity of the locus ceruleus in humans. *J Neurosci*. 2017;37(29):6938-45.
584. Hoffer BJ, Siggins GR, Oliver AP, Bloom FE. Activation of the pathway from locus coeruleus to rat cerebellar Purkinje neurons: pharmacological evidence of noradrenergic central inhibition. *J Pharmacol Exp Ther*. 1973;184(3):553-69.
585. Gould TJ, Adams CE, Bickford PC. Beta-adrenergic modulation of GABAergic inhibition in the deep cerebellar nuclei of F344 rats. *Neuropharmacology*. 1997;36(1):75-81.
586. Wegiel J, Wisniewski HM, Dziewiatkowski J, Badmajew E, Tarnawski M, Reisberg B, et al. Cerebellar atrophy in Alzheimer's disease - Clinicopathological correlations. *Brain Res*. 1999;818(1):41-50.
587. Sjöbeck M, Englund E. Alzheimer's disease and the cerebellum: a morphologic study on neuronal and glial changes. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2001;12(3):211-8.
588. Stoodley CJ, Valera EM, Schmahmann JD. Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: an fMRI study. *Neuroimage*. 2012;59(2):1560-70.
589. Arrigo A, Mormina E, Anastasi GP, Gaeta M, Calamuneri A, Quartarone A, et al. Constrained spherical deconvolution analysis of the limbic network in human, with emphasis on a direct cerebello-limbic pathway. *Front Hum Neurosci*.

- 2014;8:987.
590. Kelly RM, Strick PL. Cerebellar loops with motor cortex and prefrontal cortex of a nonhuman primate. *J Neurosci*. 2003;23(23):8432-44.
591. Habas C, Kamdar N, Nguyen D, Prater K, Beckmann CF, Menon V, et al. Behavioral/systems/cognitive distinct cerebellar contributions to intrinsic connectivity networks. *J Neurosci*. 2009;29(26):8586-94.
592. Sheline YI, Price JL, Yan Z, Mintun MA. Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(24):11020-5.
593. Greicius MD, Flores BH, Menon V, Glover GH, Solvason HB, Kenna H, et al. Resting-state functional connectivity in major depression: abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biol Psychiatry*. 2007;62(5):429-37.
594. Grimm S, Boesiger P, Beck J, Schuepbach D, Bermpohl F, Walter M, et al. Altered negative BOLD responses in the default-mode network during emotion processing in depressed subjects. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:932-43.
595. Schmahmann JD. Disorders of the cerebellum: Ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2004;16:367-78.
596. Schmahmann JD. From movement to thought: anatomic substrates of the cerebellar contribution to cognitive processing. *Hum Brain Mapp*. 1996;4(3):174-98.
597. Schmahmann JD. Cerebellum and brainstem. En: *Brain Mapping: The Systems*. Elsevier; 2000. p. 207-59.
598. Anand BK, Malhotra CL, Singh B, Dua S. Cerebellar projections to limbic system. *J Neurophysiol*. 1959;22(4):451-7.
599. Heath RG, Franklin DE, Shraberg D. Gross pathology of the cerebellum in patients diagnosed and treated as functional psychiatric disorders. *J Nerv Ment Dis*. 1979;167(10):585-92.
600. Schmahmann JD, Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain*. 1998;121:561-79.
601. Stoodley CJ, Schmahmann JD. Functional topography in the human cerebellum: A meta-analysis of neuroimaging studies. *Neuroimage*. 2009;44:489-501.
602. Stoodley CJ, Schmahmann JD. Evidence for topographic organization in the cerebellum of motor control versus cognitive and affective processing. *Cortex*. 2010;46:831-44.
603. Mergl R, Pogarell O, Juckel G, Rihl J, Henkel V, Frodl T, et al. Hand-motor dysfunction in depression: characteristics and pharmacological effects. *Clin EEG Neurosci*. 2007;38(2):82-8.
604. Yang A, Daya T, Carlton K, Yan JH, Schmid S. Differential effect of clomipramine on habituation and prepulse inhibition in dominant versus

- subordinate rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2016;26:591-601.
605. Canbeyli R. Sensorimotor modulation of mood and depression: An integrative review. *Behav Brain Res.* 2010;2017:249-64.
606. Simpson KL, Altman DW, Wang L, Kirifides ML, Lin RCS, Waterhouse BD. Lateralization and functional organization of the locus coeruleus projection to the trigeminal somatosensory pathway in rat. *J Comp Neurol.* 1997;385:135-47.
607. Gatter KC, Powell TPS. The projection of the locus coeruleus upon the neocortex in the macaque monkey. *Neuroscience.* 1977;2:441-5.
608. McBride RL, Sutin J. Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat. *J Comp Neurol.* 1976;165:265-84.
609. Marzo A, Totah NK, Neves RM, Logothetis NK, Eschenko O. Unilateral electrical stimulation of rat locus coeruleus elicits bilateral response of norepinephrine neurons and sustained activation of medial prefrontal cortex. *J Neurophysiol.* 2014;111:2570-88.
610. Depping MS, Schmitgen MM, Kubera KM, Wolf RC. Cerebellar contributions to major depression. *Front Psychiatry.* 2018;9:634.
611. Strange BA, Henson RNA, Friston KJ, Dolan RJ. Brain mechanisms for detecting perceptual, semantic, and emotional deviance. *Neuroimage.* 2000;12(4):425-33.
612. Aleman A, Swart M. Sex differences in neural activation to facial expressions denoting contempt and disgust. Baune B, editor. *PLoS One.* 2008;3(11):e3622.
613. Campanella S, Bourguignon M, Peigneux P, Metens T, Nouali M, Goldman S, et al. BOLD response to deviant face detection informed by P300 event-related potential parameters: A simultaneous ERP-fMRI study. *Neuroimage.* 2013;71:92-103.
614. Kuhn S, Gallinat J. Resting-state brain activity in schizophrenia and major depression: a quantitative meta-analysis. *Schizophr Bull.* 2011;39(2):358-65.
615. Guo Z, Liu X, Li J, Wei F, Hou H, Chen X, et al. Fractional amplitude of low-frequency fluctuations is disrupted in Alzheimer's disease with depression. *Clin Neurophysiol.* 2017;128:1344-9.
616. Robertson B, Wang L, Diaz MT, Aiello M, Gersing K, Beyer J, et al. Effect of bupropion extended release on negative emotion processing in major depressive disorder: A pilot functional magnetic resonance imaging study. *J Clin Psychiatry.* 2007;68(2):261-7.
617. Aston-Jones G, Waterhouse B. Locus coeruleus: From global projection system to adaptive regulation of behavior. *Brain Res.* 2016;1645:75-8.
618. Disabato BM, Morris C, Hranilovich J, D'Angelo GM, Zhou G, Wu N, et al. Comparison of brain structural variables, neuropsychological factors, and treatment outcome in early-onset versus late-onset late-life depression. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2014;22(10):1039-46.
619. Shimoda K, Kimura M, Yokota M, Okubo Y. Comparison of regional gray matter volume abnormalities in Alzheimer's disease and late life depression with

- hippocampal atrophy using VSRAD analysis: a voxel-based morphometry study. *Psychiatry Res.* 2015;232(1):71-5.
620. Lim HK, Jung WS, Ahn KJ, Won WY, Hahn C, Lee SY, et al. Regional cortical thickness and subcortical volume changes are associated with cognitive impairments in the drug-naive patients with late-onset depression. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(3):838-49.
621. Bürger C, Redlich R, Grotegerd D, Meinert S, Dohm K, Schneider I, et al. Differential abnormal pattern of anterior cingulate gyrus activation in unipolar and bipolar depression: an fMRI and pattern classification approach. *Neuropsychopharmacology.* 2017;42(7):1399-408.
622. Gompf HS, Mathai C, Fuller PM, Wood DA, Pedersen NP, Saper CB, et al. Locus ceruleus and anterior cingulate cortex sustain wakefulness in a novel environment. *J Neurosci.* 2010;30(43):14543-51.
623. Chandler D, Waterhouse BD. Evidence for broad versus segregated projections from cholinergic and noradrenergic nuclei to functionally and anatomically discrete subregions of prefrontal cortex. *Front Behav Neurosci.* 2012;6:20.
624. Menon V, Uddin LQ. Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain Struct Funct.* 2010;214(5-6):655-67.
625. Onoda K, Yamaguchi S. Dissociative contributions of the anterior cingulate cortex to apathy and depression: Topological evidence from resting-state functional MRI. *Neuropsychologia.* 2015;77:10-8.
626. Bush G, Luu P, Posner MI. Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends Cogn Sci.* 2000;4(6):215-22.
627. Jacobs HIL, Priovoulos N, Poser BA, Pagen LHG, Ivanov D, Verhey FRJ, et al. Dynamic behavior of the locus coeruleus during arousal-related memory processing in a multi-modal 7T fMRI paradigm. *Elife.* 2020;9:1-30.





