

# Análisis múltiplex de la red funcional cerebral en sujetos con hiperintensidades de la sustancia blanca

A. Maturana-Candelas<sup>1,2</sup>, R. Hornero<sup>1,2,3</sup>, J. Poza<sup>1,2,3</sup>, V. Jelic<sup>4,5</sup>, U. Smailovic<sup>4</sup>, C. Gómez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, aaron.maturana@uva.es.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

<sup>3</sup> IMUVA, Instituto de Investigación en Matemáticas de la Universidad de Valladolid, Valladolid, España

<sup>4</sup> Division of Clinical Geriatrics, Department of Neurobiology, Care Sciences and Society, Karolinska Institutet, Huddinge, Suecia

<sup>5</sup> Clinic for Cognitive Disorders, Theme Aging, Karolinska University Hospital, Huddinge, Suecia

## Resumen

*Las hiperintensidades de materia blanca (white matter hyperintensities, WMHs) son indicios de lesiones en el tejido cerebral observables mediante resonancia magnética. Las WMHs son útiles para caracterizar cuadros patológicos tempranos y están asociadas a un incremento del riesgo de diversas dolencias. Sin embargo, el impacto que producen dichas anomalías en la organización de la red funcional cerebral no está plenamente explorado. Con el fin de comprender la disrupción que provocan las WMHs en la habilidad del cerebro para integrar información diversa, se han calculado métricas derivadas de análisis de redes múltiplex a partir de señales de electroencefalograma (EEG). Para ello, se adquirió el EEG de 36 participantes con deterioro cognitivo subjetivo, siendo divididos en función de presencia o ausencia de WMHs atendiendo a la escala Fazekas. Posteriormente, se construyeron redes múltiplex a partir de los valores de conectividad obtenidos mediante el phase lag index (PLI). El grado de nodo promedio correspondiente a la banda de frecuencia zeta mostró diferencias significativas entre los grupos. Por otro lado, no se obtuvieron diferencias en la conectividad promedio global entre ambos grupos, pero las diferencias de la contribución de cada capa a la red funcional estuvieron próximas al umbral de significancia estadística ( $p$ -valor = 0.057, test  $U$  de Mann-Whitney). Estos hallazgos sugieren que, incluso en fases preclínicas, pequeños cambios en la integridad de la materia blanca pueden desencadenar alteraciones notables en la organización del conectoma cerebral que podrían estar incluso asociados a la activación de mecanismos de compensación.*

## 1. Introducción

Las hiperintensidades de materia blanca (WMHs) se definen como artefactos de elevado brillo hallados en imágenes de resonancia magnética (RM) cerebral. Estos elementos indican una mayor cantidad de fluido intersticial, probablemente producto de una mayor permeabilidad de la barrera hematoencefálica [1]. Las WMHs revelan lesiones del tejido cerebral vinculadas a desmielinización y la degeneración axonal [2]. A su vez, estas han sido previamente asociadas a deterioro cognitivo. Su presencia triplica el riesgo de ictus y duplica el riesgo de demencia [2]. De hecho, las WMHs están particularmente presentes en individuos de edad avanzada y pacientes con la enfermedad de Alzheimer (EA), siendo así un indicador de gran interés clínico [1]. Por ello, se desarrolló la escala Fazekas, la cual permite cuantificar la frecuencia y tamaño de las WMHs en imágenes de RM, tanto en áreas periventriculares como de sustancia

blanca profunda [3]. Esta escala ha sido validada histopatológicamente y es fácil de realizar, lo que permite un análisis cuantitativo y cualitativo de los WMHs con una buena fiabilidad [4]. La escala comprende entre valor 0 (ausencia absoluta) hasta 3 (áreas extensas y confluentes).

Al ser las WMHs indicadores que pueden manifestar signos de daño cerebral temprano, determinar su relación con enfermedades que desembocan en demencia, como la EA, es especialmente relevante. Este tipo de trastornos se expresan en un continuo en el cual los síntomas emergen de manera paulatina, desde estadios de deterioro leves hasta una anulación absoluta de cualquier capacidad física y mental. Una fase que puede indicar estados prodrómicos de declive es el deterioro cognitivo subjetivo (DCS) [7]. Este estado preclínico, aunque no conduce necesariamente a la neurodegeneración, es considerado un marcador de riesgo de demencia [7]. La DCS es particularmente interesante, ya que se relaciona con los primeros indicios de declive cognitivo y caracterizar esta fase podría dar lugar a métodos de diagnóstico en estadios más tempranos.

Las enfermedades neurodegenerativas pueden tener una implicación crítica en las relaciones funcionales entre diversas áreas del cerebro. Por ejemplo, la EA es también conocida como un “síndrome de desconexión”, que se caracteriza por una conectividad alterada en las redes neuronales que afecta en gran medida la neurofisiología del cerebro [8]. Concretamente, está relacionada con déficit sináptico y disrupción axonal que da lugar a las alteraciones de conectividad propias de la enfermedad [8]. De hecho, estos elementos están también presentes en individuos con WMHs, sugiriéndose estos como la posible causa de las alteraciones en la conectividad funcional cerebral [9]. Una de las técnicas más empleadas para caracterizar disrupciones de la conectividad cerebral es el electroencefalograma (EEG). El EEG mide las fluctuaciones del campo eléctrico en el cuero cabelludo constituidas principalmente por potenciales postsinápticos desencadenados en las neuronas piramidales [10]. Las señales de EEG son ampliamente utilizadas para estudiar estas dinámicas debido a múltiples ventajas como la portabilidad, el bajo coste y la no invasividad. Además, su resolución temporal excepcionalmente alta permite estudiar la naturaleza rápida y transitoria de las oscilaciones neuronales.

El estudio de la conectividad funcional cerebral es

uno de los grandes campos de investigación relacionados con la caracterización de estados neurodegenerativos, empleándose diversas métricas con el fin de distinguir funcionamientos saludables y patológicos del cerebro [11]. Uno de los planteamientos más sofisticados derivados de esta perspectiva es el análisis de redes múltiplex (ARM). El ARM permite determinar la correlación o coherencia entre fuentes de EEG en cada banda de frecuencia dispuestas en diferentes capas [12, 13]. Este enfoque lleva a la construcción de redes funcionales dependientes de la frecuencia, que pueden ser inspeccionadas con métricas de la teoría de grafos [12]. Además, el ARM permite cuantificar contribuciones de conectividad en frecuencias específicas asociadas a regiones cerebrales concretas [13].

Debido a que los WMHs pueden estar presentes previamente a signos clínicos de deterioro cognitivo, es fundamental comprender la relación entre estas lesiones y la disrupción de la conectividad funcional cerebral. Así pues, la hipótesis de este trabajo es que la red múltiplex que caracteriza la configuración funcional del cerebro se verá afectada en presencia de WMHs. Con el fin de validar esta hipótesis, se comparará la estructura global del conectoma cerebral en sujetos sin deterioro cognitivo clínico con WMHs y sin WMHs empleando diversas métricas derivadas del ARM. De este modo, será posible comprender la repercusión del daño a la materia blanca en la organización funcional del cerebro, aislando su efecto del provocado por la neurodegeneración. El uso de ARM a partir de EEG en combinación con información clínica sobre lesiones en la materia blanca en sujetos sanos es particularmente novedoso, y supone una perspectiva útil para comprender los cambios funcionales del cerebro en los primeros indicios de neurodegeneración.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Sujetos

En este trabajo se empleó una base de datos compuesta por 36 sujetos con DCS, divididos en 14 sujetos con puntuación 0 de Fazekas y 22 sujetos con puntuación 1 de Fazekas. Los datos EEG de cada sujeto fueron facilitados por el equipo de investigación *Division of Clinical Geriatrics, Department of Neurobiology, Care Sciences and Society, Karolinska Institutet*, Huddinge, Suecia. La evaluación del estado cognitivo se realizó mediante el test *Mini-Mental State Examination* (MMSE) [14]. La adquisición de datos fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Karolinska de Huddinge. Los pacientes dieron su consentimiento por escrito para registrar, almacenar y analizar los datos clínicos. La base de datos electrónica existente que incluye a los pacientes investigados ha sido comunicada a la Junta Sueca de Inspección de Datos y entra dentro de la legislación sobre la Ley de Datos Personales y la Ley de Revisión Ética de la Investigación con Seres Humanos. Los datos sociodemográficos de los participantes se muestran en la Tabla 1.

### 2.2. Adquisición y pre-procesado del EEG

Los registros de EEG se adquirieron durante 10 minutos en estado de reposo en el Departamento de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario Karolinska-Huddinge. Se colocaron 19 electrodos según el sistema estándar 10-20 con impedancias de electrodo inferiores a 5 kΩ y una frecuencia de muestreo de 256 Hz. Los pacientes estaban sentados en una habitación con luz normal y sonido atenuado, con los ojos cerrados. Un técnico supervisó todo el registro del EEG para alertar al paciente (mediante estimulación acústica) en caso de somnolencia. Se aplicó un filtro paso bajo de 1 a 70 Hz con ventana Hamming de orden 1000. A continuación se segmentó el EEG en épocas de 2 segundos. Finalmente, el EEG fue filtrado en las bandas de frecuencia clásicas: delta ( $\delta$ , 1-4 Hz), zeta ( $\theta$ , 4-8 Hz), alfa ( $\alpha$ , 8-13 Hz) y beta ( $\beta$ , 13-30 Hz). El procesado y pre-procesado del EEG se realizaron con MATLAB<sup>®</sup> (versión R2021b, Mathworks, Natick, MA).

	<i>N</i>	Edad (años) ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	MMSE ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Sexo (M:F)
Faz. 0	14	56.43 ± 4.40	28.64 ± 1.50	5:9
Faz. 1	22	59.50 ± 7.01	28.38 ± 1.24	6:16

**Tabla 1.** Datos sociodemográficos correspondientes a la base de datos empleada. Faz.: puntuación Fazekas; MMSE: puntuación Mini-Mental State Examination;  $\bar{x}$ : media;  $\sigma$ : desviación típica; M: masculino; F: femenino.

### 2.3. Análisis de EEG

Antes de construir las redes múltiplex, se realizó un análisis de conectividad. Entre las numerosas métricas de conectividad que existen en la literatura, el *phase lag index* (PLI) tiene la capacidad de ser relativamente insensible a los efectos de la conducción de volumen [15]. PLI cuantifica la asimetría de la distribución de las diferencias de fase instantáneas entre dos series de la siguiente manera [15]:

$$PLI = |\langle \text{sign}[\sin(\Delta\phi(t_k))] \rangle|, \quad (1)$$

donde  $\Delta\phi(t_k)$  indica la diferencia de fase para cada muestra entre dos series temporales y  $\langle \cdot \rangle$  diseña el valor medio [15]. Los valores de PLI resultantes oscilan entre 0 y 1, donde 0 indica ausencia de acoplamiento o una diferencia de fase centrada en cero o  $\pi$ ; y 1 indica un acoplamiento de fase perfecto, no centrado en cero [15]. Como resultado de aplicar la métrica PLI, se obtuvo una matriz de adyacencia de tamaño 19x19 para cada época, banda de frecuencia y sujeto, representando todas las conexiones entre pares de electrodos. Se calculó la media de todas las matrices de adyacencia de todas las épocas en cada banda de frecuencia, lo que resultó en 4 matrices (cada una correspondiente a una banda de frecuencia) por cada sujeto. La integración de estas capas dio lugar a la red múltiplex.

Para cuantificar la heterogeneidad de la contribución de conectividad de un nodo a las distintas capas de una

red, se utilizó el coeficiente de participación ( $P$ ). Este parámetro estima hasta qué punto un nodo asigna sus valores de conectividad a una sola capa o a múltiples capas de forma homogénea.  $P$  se ha utilizado previamente para evaluar la alteración de la red funcional en la EA [12, 13]. El primer paso para obtener este parámetro es calcular el grado del nodo  $i$  en una capa  $\psi$  [13]:

$$s_i^{[\psi]} = \sum_{j=1}^n w_{ij}^{[\psi]}, \quad \psi = \{\delta, \theta, \alpha, \beta\}, \quad (2)$$

donde  $w_{ij}$  es el valor de conectividad entre el nodo  $i$  y  $j$  para la banda  $\psi$  que, en nuestro caso, corresponde al valor calculado a partir del algoritmo PLI. Además,  $n = 19$ , de acuerdo con el número de canales. Cada capa  $\psi$  se obtuvo a partir del promedio por épocas de los valores PLI entre cada canal. A continuación, el grado de nodo  $s_i^{[\psi]}$  de cada canal se sumó en todas las capas, lo que dio como resultado el grado ponderado superpuesto ( $G$ ):

$$G_i = \sum_{\psi} s_i^{[\psi]}, \quad \psi = \{\delta, \theta, \alpha, \beta\}, \quad (3)$$

que se calculó para cada uno de los 19 canales de cada sujeto. Por último, se calculó el  $P$  para cada nodo  $i$  como se muestra a continuación [13]:

$$P_i = \frac{M}{M-1} \left[ 1 - \sum_{\psi} \left( \frac{s_i^{[\psi]}}{G_i} \right)^2 \right], \quad \psi = \{\delta, \theta, \alpha, \beta\}, \quad (4)$$

donde  $M = 4$  corresponde al número de capas, siendo estas la representación de la matriz de conectividad de cada banda de frecuencia. Los resultados obtenidos del cálculo de  $P$  pueden oscilar entre 0 y 1. Un valor de  $P$  igual a 1 indica valores de conectividad distribuidos homogéneamente entre capas, mientras que  $P = 0$  significa que todas las conexiones con el canal se concentran en una sola capa. En este estudio, los valores de  $G$ ,  $P$  y grado de nodo en capas individuales fueron obtenidos promediando por sujetos y épocas, obteniendo un valor promedio por cada canal. De este modo, es posible caracterizar el modelo de configuración funcional del cerebro de cada grupo de estudio. Posteriormente, los datos representativos de cada canal fueron comparados con el fin de establecer diferencias estadísticamente significativas. Debido a que los datos no eran normales ni homocedásticos, se empleó el test no paramétrico  $U$  de Mann-Whitney para determinar dichas diferencias entre los dos grupos.

### 3. Resultados y discusión

Primero, se inspeccionó el grado de nodo promedio de cada banda de frecuencia de manera individual (Tabla 2). La banda zeta fue la única que mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p$ -valor  $< 0.001$ ) entre los grupos Fazekas 0 y Fazekas 1, siendo mayor el valor de conectividad en el grupo de Fazekas 1. Este resultado está alineado con las alteraciones de PLI en zeta reportadas anteriormente al comparar sujetos en estadios preclínicos y pacientes con EA [18]. A pesar de que los sujetos en este estudio son preclínicos en su totalidad, sí podría asumirse que el grupo Fazekas 1 se encuentra en un estado más cercano a la patología. Por ello, se sugiere que las redes funcionales que trabajan en la banda zeta podrían ser más sensibles a disrupciones de fase. La potencia en la banda zeta también parece verse afectada por las WMHs, mostrando valores más elevados en sujetos con presencia de las mismas e independientemente de la edad [19]. Estas alteraciones en la potencia de zeta podría tener relación con la disrupción temprana de estas oscilaciones en presencia de WMHs, aunque esta sea mínima.

Adicionalmente, se profundizó el análisis inspeccionando los valores  $G$  y  $P$  derivados de la red múltiple en su totalidad. Los valores de  $G$  no mostraron diferencias significativas entre grupos. Se obtuvo un valor promedio entre sujetos y canales de  $16.582 \pm 0.170$  en el grupo de Fazekas 0 y  $16.605 \pm 0.169$  en el grupo de Fazekas 1. Por otro lado, para los valores de  $P$ , se obtuvo un valor de  $0.9788 \pm 0.0013$  para el grupo Fazekas 0; y de  $0.9779 \pm 8,716 \cdot 10^{-4}$  en el grupo Fazekas 1. En este caso, el  $p$ -valor obtenido se encontró cercano al umbral de significancia estadística (0.057). Este hallazgo implica que, aunque los valores de conectividad en términos globales son similares, no es así en lo que respecta a la contribución de cada capa (cada banda de frecuencia) a la configuración de la red funcional cerebral. Posiblemente, las diferencias obtenidas en la banda zeta pudieran ser la principal contribución a la disparidad en los valores de  $P$  entre grupos. Un valor de  $P$  más cercano a 1 en el grupo de Fazekas 0 implica una contribución más homogénea por parte de todas las capas. Esto podría indicar una mayor capacidad de procesamiento cerebral integrando información de diversa índole; de hecho, valores mas reducidos de  $P$  han sido asociados a una pérdida de especialización de regiones cerebrales específicas [13]. Sin embargo, esta conclusión debe de ser considerada con cautela, ya que es sabido que las fases prodrómicas de la EA se caracterizan por exhibir dinámicas eléctricas

	Delta ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Zeta ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Alfa ( $\bar{x} \pm \sigma$ )	Beta ( $\bar{x} \pm \sigma$ )
Fazekas 0	$5.133 \pm 0.038$	$4.429 \pm 0.020$	$4.562 \pm 0.108$	$2.459 \pm 0.080$
Fazekas 1	$5.150 \pm 0.029$	$4.468 \pm 0.024$	$4.548 \pm 0.113$	$2.438 \pm 0.058$
$p$ -valor	0.179	$< 0.001$	0.620	0.414

**Tabla 2.** Valores de grado de nodo por banda de frecuencia y resultados estadísticos de la comparación entre grupos (prueba  $U$  de Mann-Whitney).  $\bar{x}$ : media;  $\sigma$ : desviación típica.

con patrones opuestos al resto del continuo [16]. Dicha particularidad ha sido especialmente asociada a los mecanismos de compensación cerebral propios de estadios que preceden a la EA. Se ha reportado evidencia de la capacidad de plasticidad del cerebro para compensar la neurodegeneración precoz en pacientes con EA preclínica, incluso antes de la aparición de los primeros síntomas [16, 17].

A pesar de los hallazgos obtenidos en este estudio, es preciso mencionar ciertas limitaciones. Primero, se cuenta con un número reducido de sujetos con DCS. Un estudio con múltiples participantes de una amplia variedad de estadios permitiría mejorar la caracterización de la relación entre progresión de la EA y WMHs. Asimismo, los valores de Fazekas están muy asociados al deterioro cognitivo, y aislar totalmente el efecto de las WMHs de otros factores neurodegenerativos es inviable. Por ello, sería necesario casos infrecuentes en los que pacientes con EA sin WMHs participasen en subsecuentes estudios con el fin de estudiar su impacto en la electrofisiología cerebral.

#### 4. Conclusiones

En este estudio se ha comprobado la relación entre la presencia de WMHs y la organización de la red funcional cerebral en sujetos preclínicos. El grado de nodo promedio muestra diferencias significativas únicamente en la banda zeta, lo cual revela una mayor sensibilidad de este tipo de oscilaciones a las lesiones asociadas a las WMHs. Ello podría estar asociado a procesos cerebrales más dependientes de la integridad de la estructura axonal. Por otro lado, la conectividad global promedio no se ve afectada entre sujetos con Fazekas 0 y Fazekas 1; sin embargo, sí hay indicios de que la contribución de cada banda de frecuencia sufre alteraciones entre dichos grupos. Esto es evidencia de la relación entre pequeñas lesiones estructurales del cerebro y alteraciones significativas en la red funcional cerebral.

#### Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación / Agencia Estatal de Investigación /10.13019/501100011033 y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) ‘Una manera de hacer Europa’, bajo el proyecto PID2022-138286NB-I00, y por el CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) a través del Instituto de Salud Carlos III. La base de datos empleada en este estudio está alojada en un proyecto financiado por el programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención Marie Skłodowska-Curie número 676144 (*Synaptic Dysfunction in Alzheimer Disease*, SyDAD). A. Maturana-Candelas es beneficiario de una ayuda PIF de la “Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León”.

## Referencias

- [1] Meral A. Tubi, et al. White matter hyperintensities and their relationship to cognition: Effects of segmentation algorithm. *NeuroImage*, 2020.
- [2] Joanna M. Wardlaw, et al. What are white matter hyperintensities made of? *Journal of the American Heart Association*, 2015.
- [3] Franz Fazekas, et al. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer’s dementia and normal aging. *American Journal of Roentgenology*, 1987.
- [4] Philip Scheltens, et al. White matter changes on CT and MRI: An overview of visual rating scales. *European Neurology*, 1998.
- [5] 2022 Alzheimer’s disease facts and figures. *Alzheimer’s & Dementia*, 2022.
- [6] D.B. Carr, et al. Current concepts in the pathogenesis of Alzheimer’s disease. *The American Journal of Medicine*, 1997.
- [7] Robert Stewart. Subjective cognitive impairment. *Current Opinion in Psychiatry*, 2012.
- [8] X. Delbeuck, et al. Alzheimer’s disease as a disconnection syndrome? *Neuropsychology review*, 2003.
- [9] E.C.W. van Straaten, et al. Disturbed phase relations in white matter hyperintensity based vascular dementia: An EEG directed connectivity study. *Clinical Neurophysiology*, 2015.
- [10] Ira J. Rampil. A primer for EEG signal processing in anesthesia. *Anesthesiology*, 1998.
- [11] Fabrizio Vecchio, et al. Resting state cortical EEG rhythms in Alzheimer’s disease. In *Supplements to Clinical Neurophysiology*, volume 62, pages 223–236. 2013.
- [12] Lihui Cai, et al. Functional integration and segregation in multiplex brain networks for Alzheimer’s disease. *Frontiers in Neuroscience*, 2020.
- [13] Meichen Yu, et al. Selective impairment of hippocampus and posterior hub areas in Alzheimer’s disease: an MEG-based multiplex network study. *Brain*, 2017.
- [14] Marshal F. Folstein, et al. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 1975.
- [15] Cornelis J. Stam, et al. Phase lag index: Assessment of functional connectivity from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Human Brain Mapping*, 2007.
- [16] Sinead Gaubert, et al. EEG evidence of compensatory mechanisms in preclinical Alzheimer’s disease. *Brain*, 2019.
- [17] Simona Gardini, et al. Increased functional connectivity in the default mode network in mild cognitive impairment: A maladaptive compensatory mechanism associated with poor semantic memory performance. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 2015.
- [18] Casper T. Briels, et al. Reproducibility of EEG functional connectivity in Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s Research & Therapy*, 2020.
- [19] Fanny Quandt, et al. Higher white matter hyperintensity lesion load is associated with reduced long-range functional connectivity. *Brain Communications*, 2020.