

**Departamento de Psicología Básica, Clínica y Psicobiología
Facultad de Ciencias de la salud**



**UNIVERSITAT
JAUME·I**

**Relación de las alteraciones cerebrales estructurales y
funcionales con el deterioro cognitivo y la fatiga en la
Esclerosis Múltiple**

Tesis doctoral presentada por:

Álvaro Javier Cruz Gómez

Para obtener el grado de doctor por la Universitat Jaume I de Castellón

Directores de Tesis:

Dra. Cristina Forn Frías

Dr. César Ávila Rivera

Programa de doctorado: **Psicopatología, Salud y Neuropsicología**

Castellón, Febrero 2014

Agradecimientos

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible este trabajo. En primer lugar, quiero dar las gracias a mis dos directores de tesis, el Dr. César Ávila y la Dra. Cristina Forn. A César por darme la oportunidad hace unos años de entrar a formar parte de este grupo de investigación. A Cristina por haberme acompañado, formado y aconsejado durante estos últimos años así como por haber sido un ejemplo de constancia, trabajo y esfuerzo en la labor de la investigación.

Por otro lado también quisiera hacer extensiva mi gratitud a mis compañeros del grupo de Neuropsicología y Neuroimagen Funcional. A Aina gracias por su cercanía y por concederme valiosos momentos de respiro durante el transcurso de nuestras jornadas laborales. A Alberto quiero agradecer además de su amistad, la ayuda que me ha proporcionado a nivel técnico en cualquier momento que fuera necesario. A Víctor gracias por haber sido un compañero ejemplar desde el día en que juntos empezamos en esto hace unos años. A Noelia quiero agradecer su predisposición a ayudarme en innumerables ocasiones durante todos estos años, siempre disponible para echarme un cable. También quiero agradecer al resto de compañeros del grupo, Juan Carlos, Alfonso, Ana, María, Javi, Marián, Elisenda, y Paola por su compañerismo y por crear un ambiente de trabajo cordial y agradable.

También quiero agradecer al Dr. Belenguer, al servicio de radiología del Hospital General de Castellón, y a todos los pacientes que han colaborado con nuestro equipo sin los cuáles este trabajo no habría sido posible.

Por otro lado, quiero dar las gracias por todo el apoyo, comprensión, y ánimos recibidos por parte de amigos ajenos al ámbito laboral, entre ellos especialmente a Edu, Leonys, Raúl, Charlie, Paula, María T., Cristina, Jordi, Jaume, Feïza, Sandra, Sara, Rodrigo, Isa, Raquel, María S., Dani y Esther.

Por último, también necesito expresar mi gratitud a mi familia, la cual ha sido una fuente de apoyo y cariño incondicional durante toda mi vida. Gracias a mi madre, a mi hermano y al benjamín de la familia Marc. Y especialmente quiero dar las gracias y dedicar este trabajo a mi padre y a mi abuela, que aunque no están presentes, me siguen acompañando día a día.

Índice

<i>Índice de abreviaturas</i>	i
<i>Justificación</i>	iii
CAPITULO 1: Introducción General	1
1.1 Esclerosis Múltiple: definición, descripción y diagnóstico	3
1.1.1. Definición.....	3
1.1.2. Características clínicas	4
1.1.3. Formas clínicas de la enfermedad	6
1.1.4. Diagnóstico de la Esclerosis Múltiple.....	8
1.2 Deterioro Cognitivo en la Esclerosis Múltiple	10
1.2.1. Perfil de deterioro cognitivo característico en la Esclerosis Múltiple.....	11
1.2.1.1 <i>Velocidad del procesamiento de la información</i>	11
1.2.1.2 <i>Funciones de atención</i>	12
1.2.1.3 <i>Funciones de memoria</i>	13
1.2.1.4 <i>Funciones ejecutivas</i>	15
1.2.2. Variables relacionadas con el deterioro cognitivo en la Esclerosis Múltiple	16
1.2.3. Depresión y fatiga en la Esclerosis Múltiple.....	19
1.2.4. Evaluación neuropsicológica en la Esclerosis Múltiple	20
1.2.4.1 <i>Evaluación del estado cognitivo</i>	20
1.2.4.2 <i>Evaluación de otras variables de interés</i>	22
1.3 Neuroimagen del deterioro cognitivo en la Esclerosis Múltiple	25
1.3.1. Técnicas convencionales de Resonancia Magnética estructural	26
1.3.2. Nuevas técnicas de neuroimagen estructural	32
1.3.3. Técnicas de Resonancia Magnética funcional	36
1.3.4. Técnicas de Resonancia Magnética funcional en estado de reposo	41
1.4 Neuroimagen de la fatiga en la Esclerosis Múltiple.....	46
CAPITULO 2: Marco Experimental	49
2.1 Planteamiento experimental	51
2.2 Objetivos e hipótesis	56
2.3 Metodología	58
2.4 Estudio 1.....	61
2.5 Estudio 2.....	85
2.6 Estudio 3.....	99
CAPITULO 3: Discusión General	117
3.1 Conclusiones	127
CAPITULO 4: Anexos	129
Escala de Severidad de la Fatiga (FSS).....	131
Inventario Multiescalar de Depresión de Chicago (IMDC)	133
Bibliografía.....	135

Índice de abreviaturas

BDI: Beck Depression Inventory

BRB-N: Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test

BVMT-R: Brief Visuospatial Memory Test

CF: Conectividad Funcional

CI: Cociente Intelectual

CMDI: Chicago Multiscale Depression Inventory

COWAT: Controlled Word Association Test

CVLT-II: California Verbal Learning Test II

DARTEL: Dimorphic Diffeomorphic Anatomical Registration Exponentiated Lie algebra

D-KEFS: Delis-Kaplan Executive Function System

DMN: Default Mode Network

EDF: Escala Descriptiva de Fatiga

EM: Esclerosis Múltiple

FSS: Fatigue Severity Scale

HLA: Human Leukocyte Antigen

IMDC: Inventario Multiescalar de Depresión Chicago

JOL: Judgment of Line Orientation Test

LCR: Líquido Cefalorraquídeo

MACFIMS: Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis

MAGNIMS: Magnetic Resonance Network in Multiple Sclerosis

MSQOL-54: Multiple Sclerosis Quality of Life-54

NAA: N-Acetil Aspartato

PASAT: Paced Auditory Serial Addition Test

PE: Potenciales Evocados

PP: Primaria Progresiva

RM: Resonancia Magnética

RMf: Resonancia Magnética funcional

ROI: Region of Interest

RR: Remitente-Recurrente

RSN: Resting State Network

SB: Sustancia Blanca

SCA: Síndrome Clínico Aislado

SDMT: Symbol Digit Modalities Test

SG: Sustancia Gris

SNC: Sistema Nervioso Central

SP: Secundaria Progresiva

SPART: Spatial Recall Test

SRT: Selective Reminding Test

TM: Transferencia por Magnetización

VBM: Voxel Based Morphometry

WAIS-IV: Weschler Adult Intelligence Scale IV

Za: Puntuación Z atencional / ejecutiva

Zf: Puntuación Z fluidez verbal

Zg: Puntuación Z global

Zv: Puntuación Z memoria verbal

Zvi: Puntuación Z memoria visual

Justificación

La Esclerosis Múltiple (EM) representa la enfermedad neurológica más común entre los adultos jóvenes, estimándose que existen alrededor de 2,5 millones de personas afectadas en todo el mundo (Milo y Kahana, 2010). Además, esta patología constituye en la actualidad la segunda causa de discapacidad más frecuente (después de los accidentes de tráfico) entre la población adulta joven, ya que, aunque la EM también puede manifestarse en niños y en ancianos de forma ocasional, la edad habitual de aparición se sitúa entre los 20 y los 50 años, con la máxima frecuencia en torno a los 30 años (Milo y Kahana, 2010).

La manifestación clínica de esta enfermedad se caracteriza por una gran variabilidad, pudiéndose observar en las personas que la padecen una amplia diversidad de síntomas. Entre éstos, además de diversas alteraciones sensitivas y motoras, destacan el deterioro cognitivo y la fatiga, ya que han demostrado producir un gran impacto en la vida diaria de estos pacientes, ocasionando problemas en el ámbito personal, laboral y social y afectando a su calidad de vida. (Amato y cols., 2001a; Benito-León y cols., 2002).

Cabe mencionar que los déficits cognitivos asociados a la EM han sido subestimados durante bastante tiempo. De esta forma, hasta hace pocos años, se pensaba que la EM era una enfermedad con una sintomatología fundamentalmente sensitiva y motora, en la que las alteraciones cognitivas eran infrecuentes, o sólo se manifestaban en pacientes con un estado de la enfermedad muy avanzado o muy grave. Sin embargo, los estudios más recientes han desmentido estas ideas, y han confirmado que los déficits cognitivos pueden manifestarse en cualquier fase de EM (Chiaravalloti y DeLuca, 2008) y además muestran una elevada prevalencia en la enfermedad, afectando hasta a un 65% de los pacientes (Amato y cols., 2008).

Por otra parte, respecto a la fatiga, existen trabajos que han señalado también una elevada prevalencia de este síntoma en esta población clínica, con cifras que alcanzan aproximadamente un 80% de los pacientes (Calabrese y cols., 2010).

Desafortunadamente, las causas de las alteraciones cognitivas y la fatiga en esta enfermedad todavía están por determinar. Sin embargo, las diferentes técnicas de neuroimagen han contribuido de manera importante al esclarecimiento de los procesos fisiopatológicos relacionados con ellas. Específicamente, la Resonancia Magnética (RM), además de constituir una herramienta esencial a nivel clínico para el diagnóstico de esta patología y la monitorización de su evolución, se ha mostrado como una de las técnicas más sensibles y eficaces a la hora de detectar y cuantificar el daño estructural cerebral, posibilitando estudiar la relación de diferentes variables radiológicas con variables clínicas de interés. De esta forma, durante los últimos años hemos asistido a una proliferación de estudios de RM que, utilizando diferentes técnicas, han vinculado la fatiga y el deterioro cognitivo con diferentes medidas relacionadas con el daño estructural en el cerebro, tanto a nivel global como regional.

Aunque los trabajos más recientes han comenzado a emplear métodos de análisis más sofisticados, la relación entre estos síntomas de la enfermedad y los diferentes índices de daño estructural obtenidos en RM no es del todo concluyente. Posiblemente, este hecho pueda relacionarse con la marcada variabilidad metodológica en los estudios que han abordado este tema, así como con la heterogeneidad de las muestras de pacientes reclutados.

Tampoco debemos olvidar que el sustrato patológico de la EM implica una amplia diversidad de procesos neuropatológicos que no todas las técnicas de RM son capaces de captar. En este sentido, desde hace relativamente poco tiempo, se sabe que la enfermedad implica además de las lesiones macroscópicas características, daño microscópico en tejido cerebral de apariencia normal que no es captado por las técnicas convencionales de RM.

Por otra parte, los estudios con Resonancia Magnética funcional (RMf), han demostrado la existencia de procesos de reorganización funcional en estos pacientes (tanto durante la realización de tareas como en estado de reposo) que deben ser tenidos en cuenta además de las alteraciones estructurales para una mejor comprensión sobre la etiología de las alteraciones cognitivas y la fatiga en la EM

Teniendo en cuenta todos estos antecedentes, los estudios que se describen en la presente tesis pretenden contribuir al esclarecimiento de las bases fisiopatológicas

implicadas en dos de los síntomas más incapacitantes y prevalentes en la EM: el deterioro cognitivo y la fatiga. Para ello, nuestros estudios van dirigidos a analizar en estos pacientes la presencia tanto de alteraciones estructurales como funcionales, utilizando técnicas de análisis de RM novedosas y fiables, como la morfometría basada en el vóxel o el análisis de RMf en estado de reposo.

CAPITULO 1: Introducción General

1.1 Esclerosis Múltiple: definición, descripción y diagnóstico

1.1.1 Definición

La EM se trata de una patología crónica, autoinmune, inflamatoria y degenerativa del Sistema Nervioso Central (SNC) que se caracteriza por la aparición de lesiones desmielinizantes tanto en el cerebro como en la médula espinal. Estas lesiones dañan las capas de mielina, sustancia que recubre los axones o fibras nerviosas y cuya finalidad es la de facilitar la conducción del impulso nervioso. Este proceso conocido como desmielinización, enlentece y dificulta la adecuada transmisión del impulso nervioso entre las neuronas.

Sobre todo en las fases iniciales de la EM, se piensa que las lesiones parecen ser la causa principal de la sintomatología que manifiestan estos pacientes. Sin embargo, durante los primeros años de la enfermedad, algunas de estas lesiones son de carácter reversible, ya que la inflamación desaparece y se produce cierto grado de remielinización de los axones (coincidiendo este proceso con la remisión de los síntomas). Por otro lado, gracias al avance de las herramientas de neuroimagen, hoy en día se sabe que además de estas lesiones desmielinizantes, la EM implica otros procesos fisiopatológicos que no sólo afectan a la sustancia blanca (SB), sino que también provocan alteraciones en sustancia gris (SG) (Filippi y cols., 2012). De forma opuesta a los procesos inflamatorios, este daño neuronal es de carácter irreversible, y ocurre incluso en fases tempranas de la enfermedad. Tal y como describiremos posteriormente en este trabajo de investigación, estos procesos neurodegenerativos también se relacionan con distintos síntomas característicos de esta población clínica.

Aunque actualmente se desconoce la causa de la EM, la mayoría de estudios han señalado una etiología compleja en la que están implicados factores genéticos, ambientales e inmunológicos que interaccionan entre sí. En relación a esta idea, varias investigaciones genéticas han sugerido que aunque la EM no se pueda considerar una enfermedad hereditaria, sí existen variaciones genéticas que pueden aumentar el riesgo a padecerla, sobre todo las relacionadas con el grupo de genes del sistema HLA (antígeno leucocitario humano). Se ha estimado que los cambios en el HLA pueden explicar entre el 20 y el 60% de la predisposición genética de la EM (Baranzini, 2011). Por otra parte, los estudios con familias, han puesto de manifiesto que existe una predisposición

genética a padecer la enfermedad en familiares de pacientes con EM. Por ello, mientras el riesgo de sufrir la enfermedad para la población general se sitúa en torno al 0,1 - 0,2%, el riesgo de padecerla en familiares de primer grado es de un 3%, mientras que para familiares de segundo y tercer grado es de un 1% (Compston y Coles, 2008). Los estudios con gemelos han señalado una elevada concordancia en gemelos monocigóticos (25%), mientras que para gemelos dicigóticos la concordancia es de alrededor un 5% (Compston y Coles, 2008).

En cuanto a las variables ambientales, diferentes investigaciones han descrito posibles factores de riesgo para padecer la EM, como la latitud, la radiación ultravioleta de los rayos solares, el clima, la dieta, varios agentes tóxicos, el déficit de vitamina D así como factores inmunológicos y hormonales. En relación a la latitud, se acepta de forma general que la prevalencia de la EM aumenta progresivamente a medida que aumenta la distancia al ecuador tanto hacia el norte como hacia el sur. En este sentido, encontramos prevalencias muy bajas en zonas tropicales o en Asia (menos de 5 casos cada 100.000 habitantes), así como prevalencias más elevadas en regiones del norte de Europa, Estados Unidos y Canadá (entre 100 y 200 casos cada 100.000 habitantes). Sin embargo, existen excepciones a esta regla, encontrando regiones concretas cercanas al ecuador con elevadas prevalencias, así como zonas de alta latitud con prevalencias muy bajas (Milo y Kahana, 2010).

A modo de conclusión, la EM se trata de una enfermedad con una etiología compleja y multifactorial, en la que el riesgo contraerla se asocia con la exposición a factores ambientales en individuos genéticamente susceptibles.

1.1.2 Características clínicas

Debido a la variabilidad en la localización de las lesiones y de los procesos de degeneración neuronal, esta enfermedad implica un curso imprevisible con manifestaciones clínicas muy diversas, que incluyen alteraciones sensitivas, motoras, cognitivas y psiquiátricas.

Entre las manifestaciones sensitivo-motoras más habituales de la EM, se encuentran alteraciones motoras como las parestias o la pérdida de fuerza muscular (afectando con mayor frecuencia las extremidades inferiores), así como los problemas de equilibrio o las dificultades de coordinación del movimiento. Este tipo de

sintomatología compromete a menudo la capacidad de deambulación en estas personas, que en muchas ocasiones van a requerir el uso de dispositivos de ayuda como bastones, andadores, o silla de ruedas en los casos más graves. Son características asimismo las alteraciones de la sensibilidad, en forma de sensación de entumecimiento y hormigueo en las extremidades. También son referidas con frecuencia las alteraciones visuales, destacando entre las más frecuentes y características la visión borrosa, la visión doble o diplopía y el nistagmo; así como las disfunciones urinarias o los problemas relacionados con el habla (como por ejemplo la disartria).

Todas estas alteraciones conllevan un grado variable de discapacidad en estas personas, provocando a menudo dificultades en el desempeño de las actividades de la vida diaria. A nivel clínico, existe una escala ampliamente utilizada en esta población denominada Expanded Disability Status Scale (EDSS) que se emplea como método de cuantificación del grado de discapacidad física (Kurtzke, 1983). La escala examina 8 sistemas funcionales diferentes y tiene un rango de puntuación desde el 0 (examen neurológico normal) hasta el 10 (muerte debida a una complicación de la EM).

Por otra parte, los déficits cognitivos constituyen otro de los síntomas más habituales e incapacitantes dentro de esta población clínica. Cabe destacar que, durante mucho tiempo, las alteraciones cognitivas en estos pacientes pasaron desapercibidas para la mayor parte de los profesionales sanitarios al estar frecuentemente enmascaradas por las limitaciones físicas y sensitivas, que generalmente resultan mucho más llamativas. Sin embargo, durante los últimos años, el estudio del deterioro cognitivo se ha convertido un tema de gran interés en el abordaje de la enfermedad, ya que, al igual que los problemas sensitivo-motores, también interfiere de forma importante en el desempeño de las actividades de la vida diaria así como en la calidad de vida de estos pacientes (Goverover y cols., 2007; Chiaravalloti y DeLuca, 2008).

Junto al deterioro cognitivo, la fatiga, (síntoma que los pacientes refieren como una abrumadora sensación de cansancio o falta de energía) también se ha revelado como otro de los síntomas más comunes en la EM, y que también puede comprometer la independencia funcional en estas personas.

Al constituir estos dos síntomas el tema principal de este trabajo de investigación, en un apartado posterior se describen con mayor profundidad el perfil de deterioro cognitivo y la fatiga en estos pacientes.

1.1.3 Formas clínicas de la enfermedad

Aunque una de las características más distintivas de la EM es su variabilidad en la forma de aparición y de evolución, hoy en día se distinguen varias formas clínicas o subtipos de enfermedad.

En aproximadamente el 80% de los casos (Compston y Coles, 2008), la enfermedad se inicia con un brote clínico consistente en la aparición aguda de síntomas durante un corto período de tiempo (que puede ir desde horas a días) y que es sugestivo de algún proceso desmielinizante o inflamatorio en el SNC, implicando habitualmente el nervio óptico, el troncoencéfalo y la médula espinal (Tumani y cols., 2009). Este primer episodio se conoce como “Síndrome Clínico Aislado” (SCA) y se estima que alrededor de un 30-70% de estos pacientes acaban convirtiéndose con el paso de los años en pacientes con EM (Miller y cols., 2005). En la actualidad, la identificación de estos pacientes posee una gran relevancia clínica, ya que la implantación temprana del tratamiento en estas personas es capaz de retrasar su posible conversión a EM así como la progresión de la discapacidad.

En este sentido, ha habido una notable proliferación de estudios dedicados a identificar qué variables pueden predecir la conversión de pacientes con SCA a EM. Las variables más consistentes han sido las relacionadas con las alteraciones detectadas en la Resonancia Magnética (RM). Concretamente, la presencia de lesiones cerebrales en SB (visibles mediante secuencias T2 de RM) se han evidenciado como un fuerte predictor de la evolución a EM (Tintoré y cols., 2006; Alroughani y cols., 2012). Otros trabajos han asociado la probabilidad de conversión a EM con la presencia de atrofia cerebral (Dalton y cols., 2002; Calabrese y cols., 2011; Pérez-Miralles y cols., 2013), cambios en el líquido cefalorraquídeo (LCR-Tintoré y cols., 2008; Brettschneider y cols., 2009-), presencia de deterioro cognitivo (Zipoli y cols., 2010), edad (Mowry y cols., 2009) o el género (Dobson y cols., 2012).

Generalmente, tras el primer brote, se produce una remisión espontánea de los síntomas, ya sea total o parcial. Aunque en un pequeño porcentaje de pacientes este

primer episodio constituye un suceso aislado y no se vuelven a manifestar nuevos brotes, hemos visto como un alto porcentaje de pacientes volverán a padecer algún brote en el futuro de forma impredecible, implicando los mismos síntomas u otros nuevos. Con la manifestación de un segundo brote ya se puede establecer el diagnóstico de EM clínicamente definida. El curso evolutivo en el que los pacientes experimentan brotes de carácter imprevisible acompañados de recuperación total o parcial de los síntomas se conoce como “Remitente-Recurrente” (RR). Este subtipo de EM representa el curso evolutivo más habitual, afectando aproximadamente al 80% de los pacientes con la enfermedad (Compston y Coles, 2008).

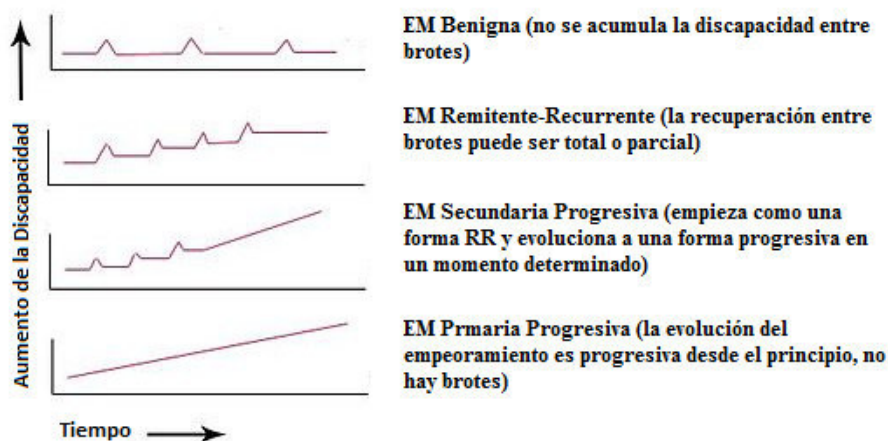
Existe una subcategoría dentro del subtipo RR llamada “EM Benigna”. Se trata de una variante caracterizada también por la presencia de brotes y remisiones pero con una sintomatología de menor gravedad así como un pronóstico más favorable. En estos pacientes pueden transcurrir muchos años entre un brote y otro, y además se manifiesta una recuperación completa de los síntomas después de su ocurrencia. Otra de las características esenciales de esta categoría es que se da una menor progresión de la discapacidad con los años. Sin embargo, el concepto de EM Benigna no está exento de controversia y debate, hecho que se evidencia al encontrarnos en la literatura con cierta falta de consenso sobre su definición (Amato y cols., 2006).

Muchos de los pacientes con la forma RR al cabo de los años experimentan cómo los síntomas empiezan a empeorar de forma progresiva, de forma independiente a la ocurrencia de brotes. En los casos en los que hay brotes, ya no se experimenta una mejoría de los síntomas (la incapacidad persiste o empeora). Esta forma de EM recibe el nombre de “Secundaria-Progresiva” (SP) y se estima que alrededor del 65% de los pacientes con una forma inicial RR acaban evolucionando a esta fase (Compston y Coles, 2008).

Por otro lado, existe otra forma clínica de EM, denominada “Primaria-Progresiva” (PP) en la cual los pacientes experimentan una aparición de los síntomas lenta y progresiva desde el inicio, con prácticamente una ausencia total de brotes y de períodos de remisión. Esta variante de la enfermedad engloba aproximadamente entre el 10 y 15% de los pacientes (Miller y Leary, 2007) y tiende a debutar de forma más tardía respecto a la forma RR. También se caracteriza por una menor actividad inflamatoria respecto a las anteriores variantes (evidenciada en un menor número de lesiones

desmielinizantes en el cerebro observadas en RM, pero con una mayor frecuencia de lesiones en la médula). En esta variante, parecen ser los procesos neurodegenerativos y no los inflamatorios los que explican en mayor grado la sintomatología clínica.

Figura 1: En la figura, se representan los 4 subtipos de EM descritos previamente. De arriba abajo encontramos la EM benigna, el curso RR, el curso SP y por último la forma PP.



1.1.4 Diagnóstico de la Esclerosis Múltiple

Fundamentalmente, para el diagnóstico de la EM se requiere el cumplimiento de dos condiciones:

1. La demostración de al menos dos lesiones desmielinizantes separadas en tiempo y en espacio mediante pruebas objetivas.
2. Que se hayan excluido de forma objetiva todas aquellas enfermedades que puedan simular una EM, tanto por sintomatología clínica como a nivel radiológico (diagnóstico diferencial).

Aunque existen varios criterios para el diagnóstico de la EM, el sistema estándar son los criterios de McDonald (Polman y cols., 2005). Estos criterios se basan tanto en parámetros clínicos como en exploraciones complementarias, concediendo una relevancia especial a RM para poder identificar las lesiones desmielinizantes, y de esta manera demostrar la diseminación temporal (2 brotes) y espacial (2 localizaciones) de éstas (**ver Tabla 1**). Cabe destacar que en algunos casos, también se permite el diagnóstico de la EM con un sólo brote clínico, ya que también se cumple la diseminación temporal y/o espacial con nuevas lesiones que se objetiven en RM aunque sean asintomáticas.

El diagnóstico también puede apoyarse en los casos necesarios en otras pruebas complementarias, tales como los potenciales evocados (PE), o el análisis del LCR mediante punción lumbar.

Recientemente, en el año 2010, el grupo Europeo de Magnetic Resonance Network in Multiple Sclerosis (MAGNIMS) se reunió para revisar los criterios de McDonald del 2005. Principalmente, los cambios se centraron en la aplicación de estos criterios en población pediátrica, asiática y latinoamericana y en la forma de demostrar la diseminación espacial y temporal mediante RM, permitiendo un diagnóstico más temprano y una mejor sensibilidad, al tiempo que no se compromete la especificidad. Siguiendo estos criterios, para el diagnóstico de la EM ya no se necesita tener al menos dos RM separadas en el tiempo, ya que la diseminación temporal puede ser demostrada por una única RM en la que se vean lesiones simultáneas con y sin contraste (Polman y cols., 2011).

Tabla 1. Criterios diagnósticos de McDonald y cols., 2005

Presentación clínica	Datos adicionales necesarios
2 o más brotes 2 o más lesiones clínicas objetivas	Ninguno. La evidencia clínica es suficiente, (la evidencia adicional es deseable pero puede ser consistente con EM)
2 o más brotes 1 lesión clínica objetiva	Diseminación en <u>espacio</u> , demostrada por: - RM o - LCR positivo y 2 o más lesiones en la RM consistente con la EM o - se espera otro ataque clínico que comprometa un sitio diferente en el SNC
1 brote 2 o más lesiones clínicas objetivas	Diseminación en <u>tiempo</u> demostrada por: - RM o - se espera un segundo ataque clínico
1 brote 1 lesión clínica objetiva (presentación monosintomática)	Diseminación en <u>espacio</u> , demostrada por: - RM o - LCR positivo y 2 o más lesiones en la RM compatibles con la EM y diseminación en <u>tiempo</u> demostrada por: - RM o - un segundo ataque clínico.
Insidiosa progresión neurológica sugestiva de EM (EM primaria progresiva)	Un año de progresión de la enfermedad (determinada retrospectiva o prospectivamente) y por lo menos 2 de estos 3 criterios: a. RM del cerebro positiva (9 lesiones en T2 o 4 lesiones o más en T2 con PE positivos) b. RM de la médula espinal positiva (dos lesiones en T2) c. LCR positivo

RM: Resonancia Magnética, LCR: líquido cefalorraquídeo, SNC: sistema nervioso central, PE: potenciales evocados.

1.2 Deterioro cognitivo en la Esclerosis Múltiple

Probablemente la primera descripción del deterioro cognitivo en la EM fue la de Charcot en 1877. Él afirmó que en un momento determinado de la enfermedad, los pacientes con EM mostraban “un marcado debilitamiento de la memoria, en el que los conceptos se formaban lentamente, y las facultades emocionales estaban embotadas en su totalidad” (Charcot, 1877).

De esta forma, aunque se ha tenido conciencia de las alteraciones cognitivas en la EM desde hace más de un siglo, éstas no fueron reconocidas como un síntoma importante de la enfermedad hasta los años 80. En esta época se empezaron a realizar los primeros estudios formales, coincidiendo con el desarrollo de las técnicas de neuroimagen y de los procedimientos psicométricos, que supusieron un importante avance en el entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad y en la medición/cuantificación del rendimiento cognitivo respectivamente.

Quizá la figura más importante en esta época fue la de Stephen Rao, quien encabezó los estudios pioneros sobre la prevalencia, la naturaleza y el impacto del deterioro cognitivo en la EM (Rao, 1986; Rao y cols., 1991a, 1991b, 1993, 1995). Sus trabajos contribuyeron de manera fundamental a la concepción de las alteraciones cognitivas como un aspecto importante en la expresión clínica de la enfermedad, estimulando el interés científico sobre su comprensión y descripción.

Desde entonces, hemos presenciado un marcado aumento de las investigaciones orientadas al estudio de las alteraciones cognitivas en la EM. Varios estudios han corroborado la elevada prevalencia del deterioro cognitivo en esta enfermedad, con cifras que oscilan entre el 43% y el 65% de los pacientes valorados en los servicios de asistencia socio-sanitaria (Benedict y cols., 2006a; Amato y cols., 2008). Por otra parte, también se ha demostrado como este síntoma puede comprometer de forma severa la calidad de vida de los pacientes con independencia del grado de discapacidad física (Bobholz y Rao, 2003), afectando a su grado de autonomía funcional e interfiriendo en el desempeño de las actividades de la vida diaria relacionadas con el mantenimiento del hogar, del trabajo, y de las relaciones sociales (Benito-León y cols., 2002; Chiaravalloti y DeLuca, 2008). Por estos motivos, en la actualidad, el deterioro cognitivo en la EM

sigue constituyendo un tema de interés principal, y su estudio y comprensión resulta esencial para entender de forma global el desarrollo de la enfermedad.

Aún con todo esto, los déficits cognitivos en los pacientes EM todavía siguen siendo subestimados en ocasiones, debido a que no siempre se realiza una valoración formal de las funciones cognitivas en las consultas hospitalarias. Desafortunadamente, este hecho provoca que muchos pacientes queden expuestos durante mucho tiempo a los efectos negativos del deterioro cognitivo. Además, todavía hoy, existe una difundida y errónea creencia acerca de que el deterioro cognitivo sólo ocurre en pacientes que se encuentran en fases muy avanzadas de la enfermedad. Sin embargo, trabajos recientes han demostrado que los déficits cognitivos pueden manifestarse en cualquier fase de la enfermedad, desde estadios iniciales hasta fases muy avanzadas (Piras y cols., 2003; Chiaravalloti y DeLuca, 2008). Incluso existen estudios que han descrito la presencia de un deterioro cognitivo leve en pacientes con SCA (Feuillet y cols., 2007; Glanz y cols., 2007; Potagas y cols., 2008), que además, como hemos visto, tiene un valor predictivo sobre la conversión a EM (Zipoli y cols., 2010). En este sentido, los déficits cognitivos se consideran en la actualidad un marcador más de la evolución de la enfermedad (Patti y cols., 2009; Zipoli y cols., 2010).

1.2.1 Perfil de deterioro cognitivo característico de la Esclerosis Múltiple

Aunque existe una marcada variabilidad individual en la manifestación de las alteraciones neuropsicológicas en estos pacientes (debido a la naturaleza difusa de la patología cerebral de EM), diferentes estudios han señalado cómo algunas funciones cognitivas resultan afectadas con mayor frecuencia durante el curso de la enfermedad. Estas alteraciones neuropsicológicas conforman un perfil de deterioro cognitivo cuyos rasgos más destacados son el enlentecimiento de la velocidad del procesamiento de la información y la alteración de la atención, memoria y funciones ejecutivas.

1.2.1.1 Velocidad del procesamiento de la información

La velocidad del procesamiento de la información va más allá de la mera velocidad de respuesta motora ante un estímulo o del denominado tiempo de reacción, y se ha definido como el tiempo requerido para ejecutar una determinada tarea, para comprender una determinada instrucción o tomar una decisión (Chiaravalloti, y cols., 2003).

Distintos estudios han demostrado una peor ejecución en tareas que requieren de la velocidad del procesamiento de la información en esta población clínica respecto a grupos de sujetos sanos utilizando distintas herramientas de valoración (Archibald y Fisk, 2000; Lengenfelder y cols., 2006; Diamond y cols., 2008).

En referencia a la velocidad del procesamiento de la información, se debe añadir que es difícil diferenciarla de otras funciones cognitivas. Esto puede ser debido a que la velocidad del procesamiento se podría considerar como un “rasgo” cognitivo subyacente a otras funciones cognitivas y no una función cognitiva “*per se*”. Así pues existen tareas que para su correcta ejecución requieren de una adecuada velocidad del procesamiento y es por ello que diversos estudios han observado una relación entre el enlentecimiento de la velocidad del procesamiento y el rendimiento en otras funciones cognitivas como en tareas de aprendizaje (DeLuca y cols., 1998; Chiaravalloti y cols., 2003), tareas de memoria de trabajo (Demaree y cols., 1999; DeLuca y cols., 2004) o funciones ejecutivas (Diamond y cols., 2008; Drew y cols., 2009; Panou y cols., 2009). Estos resultados ponen de manifiesto que el enlentecimiento de la velocidad del procesamiento de la información podría ser la causa de otras alteraciones cognitivas características de estos pacientes, y que constituye una variable importante para entender el perfil de deterioro cognitivo característico de esta población clínica.

1.2.1.2 Funciones de atención

La atención no es una función única y tiene un carácter multifacético. Habitualmente, se habla de diferentes procesos atencionales: atención selectiva, definida como la capacidad para seleccionar la información relevante y separar la irrelevante; atención sostenida o la capacidad de mantener la atención durante un periodo de tiempo determinado y permanecer en un estado de vigilancia; atención dividida o capacidad de realizar al menos dos tareas de forma simultánea; y finalmente atención alternante o facultad de cambiar el foco atencional de una tarea a otra.

Debido a la variedad de procesos cognitivos catalogados dentro de las funciones atencionales, los estudios sobre las alteraciones de este proceso en pacientes EM se caracterizan por una gran heterogeneidad de las pruebas utilizadas, encontrándose tareas que implican también otros dominios cognitivos, como la velocidad del procesamiento

de la información o el control ejecutivo. Estos hechos dificultan establecer conclusiones sobre el impacto que tiene la EM sobre los procesos atencionales.

Para diversos autores, los déficits atencionales en pacientes EM están determinados por variables como la cantidad de información, las demandas cognitivas y/o el tiempo de ejecución permitido para realizar la tarea (Dujardin y cols., 1998; Paul y cols., 1998). Así, mientras que el rendimiento en tareas básicas de atención que implican un procesamiento automático (como por ejemplo repetir dígitos), apenas se muestra alterado en estos pacientes (Benedict y cols., 2006a), si se han descrito alteraciones en la atención selectiva y sostenida (Klonoff y cols., 1991; Jansen y Cimprich, 1994; McCarthy y cols., 2005; Urbanek y cols., 2010), destacando también por su mayor prevalencia las alteraciones atencionales relacionadas con la atención dividida y/o alternante (McCarthy y cols., 2005; Amato y cols., 2008). Quizá por ello los déficits atencionales se puedan relacionar a los de velocidad de procesamiento.

1.2.1.3 Funciones de memoria

De forma paralela a la atención, la memoria también está constituida por sistemas múltiples. Se han establecido diferentes clasificaciones de la memoria, diferenciando su carácter temporal (ej. memoria a corto plazo o memoria de trabajo frente a memoria a largo plazo), el tipo de contenido que procesan (ej. memoria semántica frente a memoria episódica, o memoria verbal frente a memoria espacial), o el grado de consciencia que requieren en la recuperación de la información (ej. memoria explícita frente a memoria implícita).

Los déficits de memoria han sido ampliamente estudiados en pacientes EM y probablemente constituyan las alteraciones cognitivas más prevalentes en esta población clínica (Calabrese, 2006). Principalmente, se han observado alteraciones en la capacidad de aprendizaje y memoria a largo plazo verbal y en la memoria de trabajo (Calabrese, 2006; Chiaravalloti y DeLuca, 2008).

La capacidad de aprendizaje y memoria a largo plazo hace referencia a la capacidad de adquirir y consolidar información nueva para recuperarla posteriormente en el tiempo y representa otra de las áreas cognitivas más comúnmente afectadas en la EM, afectando entre un 40-65% de los pacientes (Chiaravalloti y DeLuca, 2008). De manera reiterada, se ha observado un peor rendimiento de los pacientes en tareas de

aprendizaje y retención a largo plazo verbal frente al grupo control (Minden y cols., 1990; Grafman y cols., 1991; Maurelli y cols., 1992; Rao y cols., 1993; DeLuca y cols., 1994; Kujala y cols., 1997; Duque y cols., 2008). Sin embargo, no existe un consenso acerca de si el origen de la alteración de la memoria a largo plazo depende de un fallo en el proceso de codificación, o por el contrario, se debe a un fallo en la recuperación de la información (Chiaravalloti y DeLuca, 2008). Hasta hace poco tiempo, la hipótesis más aceptada era la que señalaba un déficit en la capacidad de recuperación de la información como causa de esta alteración. De esta forma, algunos autores observaron como en tareas de recuerdo a largo plazo verbal, (ej. aprender una lista de palabras y posteriormente recordarlas), el reconocimiento de las palabras aprendidas previamente solía hallarse menos afectado que el recuerdo libre de esta información (Beatty y Monson, 1991; Rao y cols., 1991a; Swirsky-Sacchetti y cols., 1992). Estos resultados sugerían que la información se había aprendido, pero que los procesos de recuperación de la información en los pacientes estaban más deteriorados y mejoraban cuando simplemente tenían que reconocer el material aprendido previamente. Sin embargo, con posterioridad también aparecieron estudios señalando un rendimiento inferior de los pacientes de EM en la codificación de la información, describiéndose como éstos aprendían menos ítems que los participantes control en tareas de aprendizaje de listas de palabras (DeLuca y cols., 1994, 1998; Duque y cols., 2008). En la misma línea, también se ha descrito que si los pacientes reciben un mayor número de ensayos de aprendizaje, consiguen un rendimiento similar a los participantes control (DeLuca y cols., 1994, 1998). En la actualidad, la hipótesis más compartida es la que considera que las alteraciones de la capacidad de aprendizaje y memoria a largo plazo son consecuencia de déficits tanto en los procesos de codificación como en los de recuperación de la información (Winkelmann y cols., 2007).

Aunque también se han descrito alteraciones del aprendizaje y recuerdo de material visual/visuoespacial, éstos han sido menos estudiados (Minden y cols., 1990; Kujala y cols., 1997). Este hecho puede ser debido a que los déficits en aprendizaje y memoria a largo plazo verbal son más prevalentes y acusados y pueden manifestarse de forma precoz durante el curso de la enfermedad (Chiaravalloti y DeLuca, 2008).

Otro de los procesos frecuentemente afectados en esta población clínica es la denominada memoria de trabajo (Thornton y Raz, 1997; Calabrese, 2006; Chiaravalloti

y DeLuca, 2008). La memoria de trabajo es un concepto que enfatiza el carácter activo y dinámico de la memoria a corto plazo, y es descrita como la capacidad de mantener y manipular la información por un corto periodo de tiempo (Baddeley, 1992), por lo que dicha función cognitiva se encuentra íntimamente ligada a la capacidad de velocidad del procesamiento. Como hemos introducido anteriormente, la relación entre velocidad del procesamiento y memoria de trabajo ha sido demostrada por diversos autores de tal forma que se observa que, cuando las demandas de las tareas de memoria de trabajo se incrementan, los déficits en ambos procesos (velocidad del procesamiento de la información y de memoria de trabajo) se hacen más evidentes en los pacientes de EM (Lengenfelder y cols., 2006; Parmenter y cols., 2007a; Chiaravalloti y DeLuca, 2008). De nuevo parece que los problemas cognitivos en la EM se derivan de tareas que requieren mayor velocidad de procesamiento.

1.2.1.4 Funciones ejecutivas

Las funciones ejecutivas abarcan una serie de procesos cognitivos de alto nivel entre los que destacan la planificación de tareas dirigidas a un objetivo, la motivación, la iniciación, mantenimiento o inhibición de la conducta, la flexibilidad de pensamiento y la autoconciencia. Estas funciones resultan fundamentales para el afrontamiento de situaciones novedosas relacionadas con la toma de decisiones, la planificación, el razonamiento y la resolución de problemas.

Los déficits en estas funciones constituyen otra de las alteraciones cognitivas características de los pacientes EM, aunque se ha reportado una frecuencia menor de estas alteraciones en comparación con aquellas relacionadas con la atención, la memoria y la velocidad del procesamiento de la información (Bobholz y Rao, 2003). Estos déficits se han evidenciado en una peor ejecución de pacientes frente a sujetos control en una amplia variedad de tareas que evalúan diferentes aspectos dentro de las funciones ejecutivas, como la capacidad de planificación, el razonamiento, la solución de problemas, la toma de decisiones o la inhibición de respuestas (Beatty y Monson, 1996; Foong y cols., 1997; Vitkovitch y cols., 2002; Kleeberg y cols., 2004; Denney y cols., 2005; Nagy y cols., 2006; Parmenter y cols., 2007b).

No obstante, existen pocos estudios que examinen las distintas funciones ejecutivas de forma conjunta, ya que la mayoría de ellos miden una función ejecutiva de

forma aislada. Un trabajo reciente desarrollado por Drew y cols., (2008) utilizó la batería *Delis-Kaplan Executive Function System (DKEFS)*, que permite una valoración amplia y exhaustiva de diversos procesos ejecutivos. El grupo de pacientes de EM mostró un peor rendimiento respecto al grupo control en un amplio rango de tareas de funcionamiento ejecutivo. Los autores concluyeron que el grupo de pacientes, más que caracterizarse por tener déficits concretos en determinadas categorías ejecutivas muestran un rendimiento anómalo más generalizado, observándose una marcada variabilidad y no encontrándose un patrón típico de afectación de características frontales.

Otro de los procesos cognitivos asociados a las funciones ejecutivas es la autoconciencia. Este componente estaría relacionado con la capacidad de ser consciente de uno mismo y la capacidad de reflejar en pensamientos y conductas patrones individuales y propios del yo (Tirapu-Ustárroz y cols., 2003). Una de las facetas de la autoconciencia es la capacidad de tener conocimiento sobre los propios déficits cognitivos. La falta de esta capacidad recibe el nombre de anosognosia. Este tipo de conciencia ha sido objeto de varios estudios en pacientes EM. Las investigaciones han aportado resultados dispares, existiendo por una parte estudios que han encontrado en estos pacientes una gran precisión a la hora de percibir sus déficits cognitivos (Randolph y cols., 2001; Basso y cols., 2008; Smith y Arnett, 2010) y por otra, estudios que han señalado lo contrario (Beatty y Monson, 1991; Hoogervorst y cols., 2001; Maor y cols., 2001; Christodoulou y cols., 2005; Middleton y cols., 2006). En uno de estos trabajos (Basso y cols., 2008), se observó que sólo aquellos pacientes con un alto nivel educativo eran precisos a la hora de estimar sus propios déficits cognitivos. Otro estudio más reciente ha comprobado cómo, a pesar de la existencia de alteraciones de las funciones ejecutivas, los pacientes de EM preservaban la conciencia sobre sus propios déficits, mostrando una mayor precisión respecto a informantes cercanos (ej. cónyuges) a la hora de estimar su funcionamiento cognitivo (Smith y Arnett, 2010).

1.2.2 Variables relacionadas con el deterioro cognitivo en la Esclerosis Múltiple

Aunque como hemos visto con anterioridad, el deterioro cognitivo puede darse en cualquier momento de la enfermedad, la severidad de éste parece estar directamente relacionada con los años de evolución de la enfermedad. En este sentido, existen estudios longitudinales de hasta 10 años de seguimiento que han observado cómo a

medida que pasan los años, el rendimiento cognitivo tiende a empeorar en aquellos pacientes EM que ya mostraban alteraciones cognitivas al inicio del estudio, mientras que por otra parte, comienzan a manifestarse los primeros déficits cognitivos en aquellos pacientes que mostraban un funcionamiento cognitivo normal al principio del estudio (Amato y cols., 2001b; Schwid y cols., 2007). En la misma línea, encontramos estudios que han señalado una mayor prevalencia y gravedad de las alteraciones cognitivas en pacientes con formas progresivas de la enfermedad (SP y PP), respecto a pacientes diagnosticados de EM RR (Gaudino y cols., 2001; De Sonneville y cols., 2002). Respecto a los estudios que comparan ambos cursos progresivos, se ha descrito un mayor grado de deterioro cognitivo en los pacientes SP respecto a los pacientes con formas PP (Huijbregts y cols., 2004; Denney y cols., 2005; Bergendal y cols., 2007). Los pacientes EM SP presentan por definición más años de evolución de la enfermedad respecto a los pacientes RR, (ya que la forma SP es una evolución del curso RR), por lo que estos resultados sugieren la existencia de un gradiente temporal del deterioro cognitivo en la EM, en el cuál los años de evolución se relacionan de forma positiva con una mayor severidad de las alteraciones cognitivas.

Otros estudios también muestran un perfil de deterioro cognitivo diferenciable en función de la variable género, siendo más pronunciado y frecuente en los hombres que en las mujeres (Beatty y Aupperle, 2002; Savettieri y cols., 2004). Estos resultados podrían estar relacionados con los hallazgos de otros trabajos de neuroimagen que también han reportado diferencias de género en la fisiopatología de la EM. Así, algunos estudios han encontrado una mayor frecuencia en mujeres de las lesiones que captan gadolinio y que reflejan los procesos inflamatorios activos (Weatherby y cols., 2000; Tomassini y cols., 2005), aunque otros estudios como el de Antulov y cols., (2009) no han hallado diferencias de género en esta variable. Por otra parte, la mayoría de estudios tampoco han hallado diferencias significativas del género en la carga lesional medida en T1 y en T2 (van Walderveen y cols., 2001; Pozzilli y cols., 2003; Tedeschi y cols., 2007; Antulov y cols., 2009). En cuanto a la atrofia cerebral, algunos trabajos como el de Antulov y cols., (2009), han señalado una mayor atrofia de SG en hombres, así como una mayor atrofia de SB en mujeres. Estas diferencias podrían estar relacionadas con el efecto de las hormonas sexuales en el daño cerebral y en los mecanismos de reparación.

Otra variable que se ha relacionado con el deterioro cognitivo en la EM ha sido la depresión. Sin embargo, esta posible relación ha generado bastante controversia. De este modo, aunque en la literatura encontramos trabajos que demuestran cierta asociación entre la depresión y las alteraciones cognitivas, describiendo un rendimiento cognitivo inferior en pacientes deprimidos respecto a pacientes no deprimidos en una amplia variedad de tareas (Gilchrist y Creed, 1994; Arnett y cols., 1999; 2001; Arnett, 2005); otros estudios no han hallado esta relación (Minden y Schiffer, 1990; Schiffer y Caine, 1991; Möller y cols., 1994). Es probable que la existencia de amplias diferencias metodológicas entre todos estos estudios pueda explicar en parte la inconsistencia de los resultados. En este sentido, como señalan Arnett y cols., (2008) en una revisión sobre la relación entre deterioro cognitivo y depresión, parece ser que aquellos estudios que han incluido muestras de tamaño adecuado tienden a reportar una asociación positiva entre ambas variables. De forma independiente, en la actualidad existe un consenso aceptado que determina que las alteraciones cognitivas pueden manifestarse con o sin sintomatología depresiva. Por otra parte, los pacientes que presentan sintomatología depresiva pueden tener un mayor riesgo de deterioro cognitivo o un agravamiento de los déficits cognitivos preexistentes, pudiéndose observar también una relación inversa, es decir, el déficit cognitivo puede agravar la sintomatología depresiva (The Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis, 2005)

También se ha especulado sobre una posible relación entre uno de los síntomas más habituales en esta enfermedad como es la fatiga y las alteraciones cognitivas en esta población clínica. De nuevo, es difícil establecer conclusiones sólidas respecto a la relación entre fatiga y deterioro cognitivo debido a la diversidad metodológica empleada por los diferentes estudios y las diferencias que presentan a la hora de cuantificar la severidad de la fatiga. Sin embargo, la mayoría de los trabajos no han encontrado una asociación entre el deterioro cognitivo y el grado de fatiga estimado a través del informe subjetivo de los pacientes (van den Burg y cols., 1987; Johnson y cols., 1997; Krupp y Elkins, 2000; Beatty y cols., 2003; Morrow y cols., 2009).

De forma opuesta, existen otro tipo de factores parecen ejercer un efecto “protector” sobre el funcionamiento cognitivo de estos pacientes y que se han englobado bajo el concepto de “reserva cognitiva”. La hipótesis de la reserva cognitiva defiende que existen ciertas variables relacionadas fundamentalmente con un alto nivel

intelectual premórbido y los años de escolaridad, que tienen un efecto protector frente al deterioro cognitivo en el contexto de una patología neurodegenerativa (Stern, 2002). En esta línea, existen estudios longitudinales que han señalado como aquellos pacientes con una alta reserva cognitiva (estimada a través de tests de inteligencia verbal o de lectura así como los años de escolaridad) mostraban un menor deterioro cognitivo respecto a aquellos pacientes con una baja reserva cognitiva (Sumowski y cols., 2009a; Benedict y cols., 2010). Además, también existen estudios de RM que han puesto de manifiesto cómo altos niveles de reserva cognitiva atenúan el efecto negativo de la atrofia cerebral sobre el rendimiento cognitivo en la EM. En este sentido, un estudio mostró como entre pacientes EM con similar grado de atrofia cerebral, los que tenían una mayor reserva cognitiva no mostraban déficits cognitivos en contraposición con aquellos con bajos niveles de reserva cognitiva (Sumowski y cols., 2009b).

A modo de conclusión, observamos como las alteraciones cognitivas en la EM se han relacionado con diferentes variables, entre las cuales destacan fundamentalmente los años de evolución de la enfermedad. De esta forma, a más años de duración de la enfermedad en los pacientes, más grave resulta el grado de afectación cognitiva.

1.2.3 Depresión y fatiga en la Esclerosis Múltiple

La neuropsicología implica no sólo la valoración y tratamiento de las funciones cognitivas, sino también de las alteraciones emocionales y conductuales. Los trastornos del estado de ánimo representan otra de las manifestaciones clínicas habituales en la EM.

Concretamente, la depresión constituye una de las alteraciones más frecuentes en estos pacientes (Arnett y cols., 2008), describiéndose índices de prevalencia vital en esta población en torno al 50% (Feinstein, 2004; Ghaffar y Feinstein, 2007). Aunque es lógico pensar que la depresión en la EM puede ser debida al grado de incapacidad física y a las limitaciones que suponen en su vida diaria, se ha descrito que la depresión en esta población clínica resulta independiente del grado de incapacidad física (Möller y cols., 1994; The Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis, 2005). Además, la prevalencia de la sintomatología depresiva observada en esta población es superior a la de otras poblaciones clínicas con enfermedades crónicas y

neurológicas con similar grado de incapacidad física (Minden y cols., 1987; Schiffer y Babigian, 1984).

Resulta importante tener en cuenta este síntoma ya que diversos estudios han demostrado su influencia negativa en aspectos como la calidad de vida (Kenealy y cols., 2000), o la evolución de la enfermedad en estos pacientes (Ackerman y cols., 2000; The Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis, 2005).

Junto a la depresión, la fatiga constituye otro de los síntomas más incapacitantes de la enfermedad, con cifras que sitúan su prevalencia hasta en el 80% de los pacientes (Bakshi y cols., 2000; Lerdal y cols., 2007; Calabrese y cols., 2010). La fatiga se define como una sensación extrema de cansancio, falta de energía y sensación de agotamiento, que puede manifestarse incluso en situaciones de reposo (Comi y cols., 2001) y durante cualquier periodo de la enfermedad. La fatiga se debe considerar como un constructo multidimensional que afecta a distintas facetas del individuo ya sean motoras, sensitivas, motivacionales y/o cognitivas. Además, la fatiga que experimentan los pacientes con EM parece cualitativamente distinta de la fatiga en sujetos sanos o de la fatiga en otras enfermedades neurológicas (Krupp, 2003), y habitualmente conlleva una gran interferencia en el desempeño de las actividades de la vida diaria (Leocani y cols., 2008).

1.2.4 Evaluación neuropsicológica en la Esclerosis Múltiple

Una valoración neuropsicológica formal resulta fundamental para identificar el tipo y el grado de las alteraciones cognitivas que el paciente presenta, posibles factores asociados a las mismas (alteraciones emocionales, fatiga, etc.), así como las implicaciones que los déficits observados provocan en las actividades de la vida diaria para instaurar un programa personalizado de intervención terapéutica.

1.2.4.1 Evaluación del estado cognitivo

Se han propuesto distintas baterías específicas y sensibles para valorar el deterioro cognitivo de estos pacientes. A continuación se describen dos de las más utilizadas tanto en el ámbito clínico como en el de la investigación:

En primer lugar encontramos la *Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRB-N)*. Se trata de una de las baterías neuropsicológicas breves más utilizadas y

fue desarrollada por Rao y el *Cognitive Function Study Group*, (1990). Esta batería es una versión reducida de otra mucho más amplia que constaba de 23 test neuropsicológicos elegidos siguiendo las propuestas de la *Neuropsychological Research in Multiple Sclerosis*. De estos test, se seleccionaron aquellos que mostraron una mayor sensibilidad y especificidad en la detección del deterioro cognitivo de los pacientes de EM y además se adaptaron algunas de las pruebas para que su rendimiento no se viera interferido por los déficits motores y/o sensitivos característicos de la enfermedad. Los 5 test que se describen en la **Tabla 2** son los que finalmente constituyen la batería final, la cual a su vez consta de hasta 15 versiones distintas para poder realizar valoraciones longitudinales. Esta batería cuenta con unos elevados índices de sensibilidad y especificidad del 71% y 94% respectivamente (Rao and Cognitive Function Study Group, 1990) y además, existe la versión traducida y con datos normativos para la población de habla castellana (Sepulcre y cols., 2006).

Tabla 2: Test cognitivos incluidos en la batería Brief Repeteable Battery of Neuropsychological Test (BRB-N) y funciones cognitivas que valora.

Subtests	Funciones cognitivas evaluadas
Selective Reminding Test (SRT)	Aprendizaje y memoria a largo plazo verbal
Spatial Recall Test (SPART)	Aprendizaje y memoria a largo plazo visuoespacial
Symbol Digit Modalities Test (SDMT)	Velocidad del procesamiento de la información y atención selectiva
Controlled Word Association Test (COWAT)	Funciones ejecutivas / Fluidez verbal
Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) 3 y 2 segundos	Memoria de trabajo y velocidad del procesamiento

En segundo lugar también disponemos de la *Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis (MACFIMS)* Se trata de una batería propuesta por Benedict y cols., (2002) como alternativa a la BRB-N. Valora varios dominios cognitivos comúnmente afectados en la EM (**ver Tabla 3**). Esta batería también

presenta formas alternativas para cada uno de los tests para poder ser administradas en diferentes momentos temporales.

Ambas baterías presentan cierto solapamiento en algunas de las pruebas utilizadas. Las principales diferencias se manifiestan en que la batería *MACFIMS* permite una valoración más exhaustiva de las funciones ejecutivas y diversos sistemas de procesamiento visuoespacial respecto a la *BRB-N*.

Tabla 3: Test incluidos en la batería Minimal Assesment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis (*MACFIMS*) así como funciones cognitivas que valoran.

Subtests	Funciones cognitivas evaluadas
California Verbal Learning Test II (CVLT-II)	Aprendizaje y memoria a largo plazo verbal
Brief Visuospatial Memory Test (BVMT-R)	Aprendizaje y memoria a largo plazo visuoespacial
Delis-Kaplan Executive Function System (D-KEFS) Sorting Test	Funciones ejecutivas/razonamiento abstracto
Judgment of Line Orientation Test (JOL)	Habilidades visuoespaciales
Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) 3 y 2 segundos.	Memoria de trabajo y velocidad del procesamiento
Symbol Digit Modalities Test (SDMT)	Velocidad del procesamiento de la información y atención selectiva
Controlled Oral Word Association Test (COWAT)	Funciones ejecutivas / Fluidez verbal

1.2.4.2 Evaluación de otras variables de interés

Como hemos descrito con anterioridad, además de la valoración de las funciones cognitivas, es imprescindible que la evaluación neuropsicológica recoja información sobre otras áreas habitualmente afectadas en los pacientes EM y que son importantes para establecer conclusiones sobre el estado cognitivo global del paciente, como posible sintomatología depresiva y la fatiga.

Respecto a la fatiga, debemos mencionar que su evaluación resulta muy complicada, debido a la subjetividad de este síntoma. Aunque se disponen en la actualidad de diferentes escalas para su evaluación, podemos decir que no existe una unidad de criterios sobre la forma de calificarla y evaluarla (Izquierdo y Ruiz-Peña, 2003). Aun así, encontramos que una de las escalas más utilizadas es la *Fatigue Severity Scale (FSS)* de Krupp y cols., (1989). Para población de habla castellana, disponemos de su versión validada denominada Escala de Severidad de Fatiga (Bulbena y cols., 2000). Se trata de un cuestionario que se administra de forma muy rápida ya que sólo consta de nueve ítems en los que el paciente debe puntuar de 1 a 7 cuál es su grado de acuerdo. El punto de corte en esta escala se ha establecido de forma arbitraria, aunque la mayoría de autores utiliza la puntuación de 5 puntos para diferenciar entre presencia o ausencia del síntoma (Bakshi y cols., 2000). Otra de las escalas de fatiga comúnmente utilizada y baremada para población de habla castellana es la Escala Descriptiva de Fatiga (EDF) (Iriarte y cols., 2000).

Para la valoración de la depresión, se puede utilizar la versión española del Inventario de Depresión de Beck (del inglés Beck Depression Inventory BDI -Sanz y Vázquez, 1998-). En la administración del BDI en pacientes EM se recomienda la utilización específica de un punto de corte más alto, concretamente de 13 puntos, para diferenciar entre los pacientes de EM con y sin depresión (The Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis, 2005). Esto es debido a la inclusión en el cuestionario de ítems que incluyen síntomas vegetativos que son característicos de la depresión pero que también son frecuentes y característicos de la enfermedad (como los dolores o insomnio), y pueden dar lugar al sobre diagnóstico de depresión en esta población clínica.

Por este motivo, también se utiliza en la práctica clínica el cuestionario *Chicago Multiscale Depression Inventory (CMDI)*, diseñado para valorar la depresión en pacientes con enfermedades médicas y neurológicas (Nyenhuis y cols., 1998), y que ha sido validado en pacientes con EM (Chang y cols., 2003). Esta escala consta de 50 ítems que representan sentimientos o experiencias sobre los cuáles el paciente debe manifestar su grado de acuerdo tomando como referencia temporal la última semana. Este instrumento ofrece la ventaja de incluir tres sub-escalas que evalúan de forma separada diferentes aspectos de la depresión: el estado de ánimo, el componente

evaluativo y la sintomatología vegetativa. De esta forma, prescindiendo de la puntuación en la sub-escala vegetativa, se puede obtener un indicador más fiable de la depresión en esta población.

También es recomendable en la evaluación inicial, recabar información sobre el cociente intelectual (CI) premórbido del paciente. Una forma de proceder para la obtención de esta información es utilizando los subtests de vocabulario y matrices de la Weschler Adult Intelligence Scale IV (WAIS-IV -Wechsler, 2008-), que nos sirven para obtener de forma rápida índices sobre el CI verbal y manipulativo respectivamente, sin el inconveniente del tiempo requerido para administrar la batería completa.

Finalmente, si se desea, la valoración neuropsicológica puede incluir de forma complementaria una entrevista que valore la calidad de vida, un cuestionario a utilizar sería el Cuestionario de Calidad de vida específico para pacientes de EM (del inglés Multiple Sclerosis Quality of Life-54 - MSQOL-54-) adaptado por Aymerich y cols., (2006).

1.3 Neuroimagen del deterioro cognitivo en la Esclerosis Múltiple

Hemos visto como el estudio y la comprensión del deterioro cognitivo resulta esencial para entender la EM de forma global, considerándose un marcador más de la evolución de la enfermedad. Durante los últimos años, se ha producido un marcado incremento de trabajos que evalúan la relación entre el deterioro cognitivo en esta población clínica y diferentes variables patológicas obtenidas mediante diferentes técnicas de neuroimagen. Como veremos, la relación entre las alteraciones cognitivas y los hallazgos patológicos es compleja y en ocasiones de difícil interpretación, en gran medida debido a la diversidad de variables neuropatológicas que implica la EM.

De esta forma, los primeros estudios que empleaban técnicas convencionales de RM estuvieron dirigidos a buscar una posible relación entre el deterioro cognitivo en la EM y diferentes variables radiológicas como la carga lesional y la atrofia (definida como la pérdida de volumen de tejido cerebral), medida en los primeros estudios a nivel global y con posterioridad a nivel regional, utilizando de forma reciente técnicas más novedosas como el análisis de morfometría vóxel a vóxel.

Sin embargo, hay que destacar estas técnicas convencionales de RM no son capaces de reflejar toda la diversidad de los cambios patológicos que ocurren en la EM. En este sentido, las técnicas no convencionales de RM como la transferencia por magnetización, el tensor de difusión o la espectroscopia, han demostrado la existencia en estos pacientes de anomalías microscópicas en el tejido cerebral de apariencia normal, más allá de las alteraciones detectadas con los métodos convencionales de RM, que, además, correlacionan de forma consistente con las alteraciones cognitivas en la EM.

Además, los estudios que han empleado técnicas de Resonancia Magnética funcional (RMf) ya sea durante diferentes tareas cognitivas o en estado de reposo, han mostrado la existencia de distintos procesos de neuroplasticidad que pueden enmascarar la relación entre los índices morfológicos de daño cerebral y el rendimiento cognitivo de los pacientes con EM. Estos procesos no deben ignorarse, en tanto que pueden compensar las alteraciones cognitivas de esta población clínica. Finalmente, hay que añadir que la notable diversidad metodológica de los distintos trabajos realizados con pacientes con EM dificulta las conclusiones acerca de la relación entre el deterioro cognitivo y los procesos patológicos cerebrales.

1.3.1 Técnicas convencionales de Resonancia Magnética estructural

Como hemos visto con anterioridad, la RM estructural se ha convertido en los últimos años en una técnica esencial en el diagnóstico de la EM. Esta técnica en la práctica clínica, no sólo permite de forma no invasiva ayudar al diagnóstico de la enfermedad, sino también monitorizar la evolución de ésta y la respuesta al tratamiento.

En cuanto a su utilización en el campo del estudio del deterioro cognitivo de estos pacientes, el objetivo final de la mayoría de estudios ha sido el de correlacionar la ejecución de distintas pruebas cognitivas con distintas variables de RM relacionadas fundamentalmente con las lesiones y la atrofia cerebral.

Una de las variables más estudiadas ha sido el volumen lesional global, habitualmente adquirido mediante secuencias de RM potenciadas en T2, el cual ha mostrado su utilidad como medida de seguimiento del curso de la EM, representando un marcador de la actividad de la enfermedad (Rosche y cols., 2012). Rao y cols., (1989) realizaron uno de los trabajos pioneros, en el cual observaron una correlación entre el volumen total de lesión y alteraciones en diversos tests neuropsicológicos. Posteriormente, otros autores han utilizado esta misma variable, pero medida a nivel regional, con el objetivo de establecer posibles correlaciones entre lesiones en zonas anatómicas específicas y alteraciones cognitivas concretas. Swirsky-Sacchetti y cols., (1992) encontraron una relación entre el volumen lesional medido a la altura del lóbulo frontal y tests neuropsicológicos que valoraban funciones ejecutivas. Estos resultados han sido replicados en estudios posteriores (Arnett y cols., 1994; Rovaris y cols., 1998). Otro estudio mostró diferentes correlaciones significativas entre el volumen lesional tanto del lóbulo frontal como parietal con diversas medidas de atención, velocidad del procesamiento de la información y memoria verbal, que además, se hicieron más significativas a los cuatro años de seguimiento en los pacientes (Sperling y cols., 2001). Aunque estos estudios aportan indicios acerca de una posible relación entre lesiones frontales o parietales y menor rendimiento en diferentes áreas cognitivas, los datos se mostraban poco consistentes y, en algunos casos, las correlaciones desaparecían cuando dichos resultados eran controlados por el volumen lesional total (Foong y cols., 1997; Sperling y cols., 2001).

En este sentido, hay que destacar que la localización de las lesiones en la EM es sumamente heterogénea, pero no es del todo aleatoria. Así pues, se ha observado una

mayor carga lesional en los lóbulos frontales y parietales respecto a otras zonas anatómicas (Sperling y cols., 2001; Lazeron y cols., 2005). Estos datos dan a entender que el volumen lesional de estas regiones refleja en gran medida la carga lesional total en los pacientes con EM y, por lo tanto, el significado de estas correlaciones con tests concretos de funciones ejecutivas no resulta del todo específico ni concluyente.

En cuanto a las lesiones frontales y parietales, dos son los tests cognitivos que muestran una mejor correlación con las lesiones observadas en estas zonas: el PASAT y el SDMT (Lazeron y cols., 2005). Ambas tareas se han mostrado sensibles a la valoración y monitorización del deterioro cognitivo de la EM (Deloire y cols., 2006; Forn y cols., 2007), y requieren durante su ejecución la activación del circuito fronto-parietal (Deloire y cols., 2006) así como la correcta integridad de las vías de SB que conectan ambos lóbulos (Au Duong y cols., 2005). Otro trabajo ha relacionado las lesiones ubicadas en la fosa posterior (que incluye el troncoencéfalo y el cerebelo) con un peor rendimiento en la tarea de Sternberg, prueba relacionada con la velocidad del procesamiento de la información (Archibald y cols., 2004). Siguiendo la metodología de la morfometría basada en el vóxel (que es una técnica de neuroimagen que permite el estudio de diferencias focales en la localización anatómica de las lesiones), Rossi y cols., (2012) encontraron cómo los pacientes EM con deterioro cognitivo mostraron una mayor frecuencia de lesión localizada en fórceps mayor y en el cuerpo calloso respecto a los pacientes sin deterioro cognitivo. Además, observaron que un peor rendimiento en la tarea SDMT estaba correlacionado con una mayor probabilidad de lesión en los mismos tractos de SB. Otros trabajos también han hallado una relación entre la ejecución de la tarea PASAT y las lesiones localizadas en regiones periventriculares, áreas del cíngulo, y tractos de SB que conectan regiones parietales y frontales, así como regiones del tálamo con la corteza cerebral (Sepulcre y cols., 2009a; Vellinga y cols., 2009).

De forma paralela, otros estudios con una aproximación metodológica similar han hallado relaciones significativas entre la localización de las lesiones en varias regiones y el rendimiento en varias pruebas neuropsicológicas de aprendizaje y memoria verbal (Sepulcre y cols., 2008) así como de fluidez verbal (Kincses y cols., 2011). Incluso en pacientes SCA se ha demostrado una asociación significativa entre la ubicación de las lesiones y el rendimiento tanto en tareas de memoria verbal como de memoria visual (Reuter y cols., 2011).

Estos resultados sugieren que las lesiones parecen contribuir a la manifestación del deterioro cognitivo en la EM. Tal y como señalan algunos autores, las lesiones ubicadas en diferentes tractos de SB provocarían una disrupción de la comunicación o desconexión entre regiones cerebrales distantes (como el caso de áreas parietales y frontales) que podría contribuir a un peor rendimiento cognitivo en estos pacientes (Rovaris y Filippi, 2000; Filippi y cols., 2012; Rossi y cols., 2012). Sin embargo las lesiones en SB no parecen constituir la única causa del deterioro cognitivo en la EM, ya que éste parece tener una etiología multifactorial en la que también están involucrados otros procesos patológicos que no son captados por las lesiones en T2 cuantificadas por métodos convencionales de RM (Filippi y cols., 2010).

En este sentido, el estudio del deterioro cognitivo y su relación con variables anatómicas no se limita a las lesiones en SB. Como se ha comentado anteriormente, la patología de la EM implica también pérdida de SG, entendiéndose en términos de lesiones focales, anormalidades ‘difusas’ y pérdida irreversible del tejido u atrofia (Filippi y Rocca, 2010). En este sentido, las lesiones crónicas hipointensas observadas en secuencias T1 conocidas como ‘agujeros negros’ (del inglés, *black holes*) representan regiones donde se ha producido pérdida axonal y destrucción de neuronas (Sahraian y cols., 2010). En comparación con éstas, las hiperintensidades en T2 carecen de cierta especificidad patológica, ya que además de desmielinización, estas anormalidades también pueden representar otros procesos como gliosis o edemas. Aun así, la definición de lo que se considera un ‘agujero negro’ es arbitraria e inespecífica y sujeta a la técnica de RM utilizada. Los trabajos encaminados al estudio de la relación entre este tipo de lesiones y el deterioro cognitivo han observado resultados similares a los que estudiaban la correspondencia con las lesiones hiperintensitas observadas en T2 (Rovaris y cols., 2006).

Por otra parte, varios autores han mostrado una relación (también moderada) entre distintas variables relacionadas con la atrofia cerebral y pruebas cognitivas. En un estudio longitudinal (Zivadinov y cols., 2001), se describió una mayor pérdida del parénquima cerebral en pacientes que presentaban deterioro cognitivo respecto a los preservados cognitivamente. Los resultados de este estudio también mostraron una correlación positiva entre la pérdida de parénquima cerebral y el volumen lesional observado en secuencias T1 y T2, que fue más significativa en el seguimiento longitudinal de los pacientes (dos años después). De forma paralela, otros autores han

observado también una estrecha relación entre el rendimiento del PASAT, SDMT y pruebas que medían el aprendizaje verbal con la dilatación del tercer ventrículo, medida también relacionada con el grado de atrofia cerebral (Benedict y cols., 2004). Estos resultados positivos entre la dilatación del tercer ventrículo y el rendimiento de las pruebas neuropsicológicas en pacientes con EM han sido replicados posteriormente (Tekok-Kilic y cols., 2007; Sánchez y cols., 2008; Tiemann y cols., 2009). El valor predictivo de la dilatación del tercer ventrículo en el deterioro cognitivo de la EM podría explicarse por su proximidad anatómica al tálamo. La atrofia talámica parece ser un marcador relevante del proceso degenerativo de la EM, presentando esta estructura un menor volumen en pacientes con EM desde fases tempranas de la enfermedad (Audoin y cols., 2006), incluso en pacientes con SCA (Henry y cols., 2008). En este sentido, el tálamo es una estructura crucial que se encuentra interconectada con amplias zonas corticales y subcorticales del cerebro. Estas conexiones reflejan largos tractos de SB y, por lo tanto, son susceptibles al proceso desmielinizante característico de la EM, que junto con el proceso de degeneración walleriana, contribuye a la atrofia de estructuras subcorticales en estos pacientes (Benedict y cols., 2004), relacionándose además con un peor funcionamiento cognitivo general (Houtchens y cols., 2007).

Otra de las variables que se ha relacionado con una posible causa de déficits cognitivos ha sido la reducción del volumen neocortical. Los pacientes considerados cognitivamente deteriorados (atendiendo a unos criterios preestablecidos) mostraban una reducción del volumen cortical respecto a los no deteriorados (Benedict y cols., 2006b; Amato y cols., 2007; Calabrese y cols., 2009). Esta pérdida de volumen en los pacientes con deterioro cognitivo muestra también una relación con el volumen lesional cortical (Calabrese y cols., 2009). Las lesiones corticales también han mostrado una relación significativa con el rendimiento cognitivo en pacientes EM como han puesto de manifiesto algunos estudios (Calabrese y cols., 2009; Roosendaal y cols., 2009). Estos resultados refuerzan la idea de que las alteraciones en la SG (lesiones corticales y atrofia) son clínicamente relevantes y contribuyen, de forma significativa, al desarrollo del deterioro cognitivo en la EM (Calabrese y cols., 2009; Roosendaal y cols., 2009).

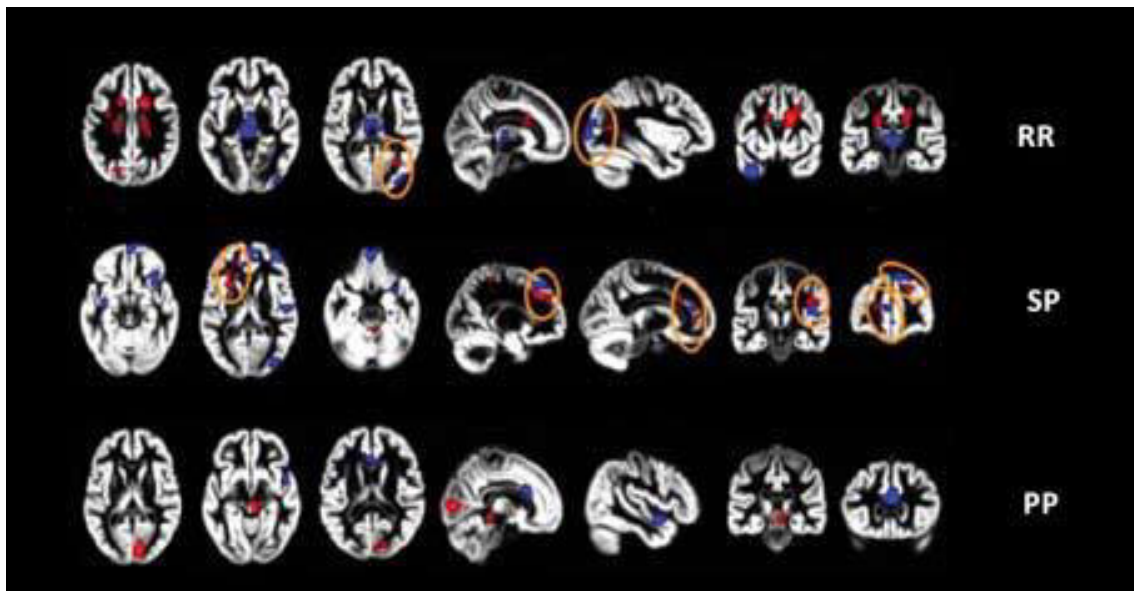
Por otra parte, algunas investigaciones se han dirigido a analizar una posible relación entre alteraciones estructurales en el hipocampo y el rendimiento en pruebas de aprendizaje y memoria a largo plazo (tanto verbal como espacial). De esta forma, un estudio ha señalado la presencia de atrofia hipocampal bilateral (especialmente en la

zona CA1) en pacientes EM tanto de curso RR como SP que, además, correlacionaba con una peor ejecución de una tarea de aprendizaje de palabras (Sicotte y cols., 2008). En otro estudio (Roosendaal y cols., 2009), se observó que el número de lesiones ubicadas en el hipocampo correlacionaba consistentemente con el rendimiento en una tarea de memoria visuoespacial.

Trabajos más recientes de RM han empleado técnicas de análisis más sofisticadas como la morfometría basada en vóxel (igual que hemos visto en el estudio de la lesiones). Este acercamiento metodológico presenta la ventaja de aportar información sobre la localización topográfica de la pérdida de volumen de tejido cerebral vóxel a vóxel. Siguiendo esta metodología, un estudio reciente desarrollado por Riccitelli y cols., (2011a), muestra diferencias en el grado de atrofia de la SG entre pacientes con y sin deterioro cognitivo, atendiendo a distintos fenotipos de la enfermedad. En primer lugar, estos autores observan un mayor grado de atrofia en la SG en pacientes con deterioro cognitivo respecto a pacientes sin deterioro cognitivo. Un segundo resultado muestra la existencia de un perfil de atrofia en la SG diverso para los distintos fenotipos de expresión de la enfermedad. Así, los pacientes con deterioro cognitivo y diagnóstico de EM secundaria progresiva muestran un mayor grado de atrofia respecto a los pacientes con EM primaria progresiva deteriorados cognitivamente. Además, este patrón también se cumple cuando los pacientes con EM remitente recurrente son comparados con los pacientes con EM primaria progresiva (observándose un mayor grado de atrofia en SG en pacientes con EM remitente recurrente). Estos datos muestran que los pacientes con EM remitente recurrente y EM secundaria progresiva con deterioro cognitivo forman un grupo más homogéneo en relación con la patología cerebral observada que los pacientes con la forma de expresión primaria progresiva. Otra diferencia que se debe destacar entre estos tres grupos de pacientes es que los fenotipos de expresión remitente recurrente y secundaria progresiva muestran un paralelismo o correspondencia entre las lesiones de SB y la atrofia en SG que no se observa en los pacientes con EM primaria progresiva (**ver Figura 2**) En este sentido, y como conclusión a los resultados del estudio (Riccitelli y cols., 2011a), parece ser que los pacientes con EM remitente recurrente y EM secundaria progresiva muestran un patrón de deterioro cerebral similar, en el que probablemente primero aparecen las lesiones en la SB que posteriormente dan lugar a la degeneración axonal, dando como resultado final una atrofia observable en la SG. Otros resultados también

han mostrado un mayor grado de atrofia en pacientes con EM secundaria progresiva respecto a pacientes con EM remitente recurrente (ambos grupos con deterioro cognitivo), lo que sugiere que la progresión de la enfermedad se relaciona con una mayor degeneración cerebral (Benedict y cols., 2006b; Roosendaal y cols., 2009).

Figura 2: Imágenes presentadas en convención neurológica (derecha es derecha). Distribución de las lesiones observadas en una secuencia T2 en distintos grupos de pacientes de esclerosis múltiple (EM) (rojo) y atrofia en la sustancia gris (azul). La imagen superior muestra la distribución de las lesiones y atrofia en un grupo de pacientes con EM con fenotipo RR, la imagen central muestra la misma distribución en un grupo de pacientes con EM SP, y la imagen inferior en un grupo de pacientes con EM PP. Hay que destacar la relación topográfica entre las lesiones y la atrofia en el grupo de pacientes con fenotipo remitente recurrente y secundario progresivo, no observable en el grupo de pacientes con EM primaria progresiva. Imagen adaptada de Riccitelli y cols., 2011a.



Por otra parte, aunque las técnicas vóxel a vóxel pueden aportar una información más detallada sobre la relación entre variables cerebrales y déficits cognitivos, otro trabajo (Sastre-Garriga y cols., 2009) muestra cómo un menor rendimiento cognitivo en pacientes con EM en distintas pruebas puede predecirse mediante medidas generales de atrofia difusa, en comparación con medidas anatómicamente más precisas. Los autores de este estudio mostraron una correlación consistente entre los niveles de ejecución de la prueba PASAT y la disminución del volumen global de SG, pero no pudieron demostrar ninguna correlación significativa entre distintas pruebas cognitivas y las medidas de atrofia vóxel a vóxel. En cualquier caso, y aunque según los autores estos resultados podrían relacionarse con el carácter difuso del daño cerebral característico de los pacientes con EM (Sastre-Garriga y cols., 2009), es necesario mencionar que la

muestra utilizada fue relativamente pequeña, por lo que los resultados no pueden considerarse concluyentes respecto a la utilidad clínica de las técnicas de atrofia general respecto a las técnicas de estudio vóxel a vóxel.

En resumen, parece que existe una relación moderada entre el volumen lesional (medido en T1 y T2) y el rendimiento cognitivo en pacientes con EM. Esta relación moderada puede deberse a que esta variable no refleja la diversidad patológica de esta enfermedad. En este sentido, la atrofia observada en la SG se relaciona de forma más consistente con el deterioro cognitivo de la EM, aunque se necesitan más estudios al respecto, sobre todo utilizando técnicas morformétricas más avanzadas (morfometría vóxel a vóxel), que aíslen la atrofia en SB y SG de estructuras anatómicas concretas. En referencia a la localización topográfica, aunque las lesiones en la SB se presentan de forma dispersa, existen evidencias que indican que las áreas frontales y parietales son más sensibles a la ubicación de dichas lesiones, sobre todo en las fases iniciales de la enfermedad, las cuales parecen provocar una disrupción de las vías de la SB que conectan ambas zonas corticales (frontales y parietales), contribuyendo a la aparición del enlentecimiento de la velocidad del procesamiento de la información, y de los déficits cognitivos característicos en estos pacientes (Au Duong y cols., 2005; Filippi y cols., 2012).

1.3.2 Nuevas técnicas de neuroimagen estructural

Los estudios descritos hasta el momento que han utilizado técnicas convencionales de RM estructural han mostrado cómo distintas variables patológicas (volumen lesional, dilatación ventricular, pérdida de volumen neocortical, etc.) se relacionan con las alteraciones cognitivas en los pacientes EM. Sin embargo, estas variables no son capaces de explicar completamente el deterioro cognitivo en esta enfermedad. Durante los últimos años, se están realizando diversas investigaciones que emplean nuevas técnicas de RM que permiten detectar de forma más específica y sensible aquellas lesiones macro y microscópicas derivadas de la destrucción de la mielina o del daño axonal, incluso en áreas cerebrales de ‘aparición normal’.

La transferencia por magnetización (TM) es una técnica cuantitativa de RM cuyo mecanismo se basa en el intercambio de magnetización entre los protones de las moléculas de agua y aquéllos que forman parte de macromoléculas grandes y con poca movilidad (p. ej., mielina), ofreciendo un valor indirecto de la concentración de mielina

en el parénquima encefálico (Rovaris y cols., 2006). Una disminución de la relación de TM en los pacientes refleja lesiones crónicas en las que existe una grave desmielinización. En lesiones agudas también se observa esta reducción, pero en estos casos son el reflejo de un edema intersticial que forma cavidades en el parénquima cerebral y que, en muchas ocasiones, son reversibles en el tiempo (Rovira y cols., 1999).

En general, se han observado una correlaciones consistentes entre una reducción de la relación de TM en pacientes con EM y diversas variables clínicas (Rovaris y Filippi, 2000). En el estudio desarrollado por Rovaris y cols., (1998) se observó una relación entre lesiones frontales y funciones ejecutivas, pero también que los pacientes con deterioro cognitivo mostraban una reducción de los valores de TM respecto al grupo de pacientes cognitivamente preservados. Estas diferencias en la media de la relación de TM entre pacientes con y sin deterioro cognitivo también se apreciaron en un estudio posterior (Rovaris y cols., 2000), en el que esta medida (relación media de disminución de TM) era la que mejor se asociaba al deterioro cognitivo. Resultados similares fueron descritos en otra investigación (van Buchem y cols., 1998), mostrando que las relaciones de TM diferían entre los pacientes que mostraban un mayor grado de deterioro cognitivo respecto a aquellos con deterioro cognitivo leve o sin signos de deterioro cognitivo. Además, en este trabajo también se encontró una buena correlación entre las medidas de TM y diversos tests neuropsicológicos (van Buchem y cols., 1998). La relación entre disminución de medidas de TM y tests neuropsicológicos se ha observado en otros estudios longitudinales, de tal forma que aquellos pacientes con un menor nivel de TM basal evolucionaban cognitivamente peor que aquellos pacientes con niveles de TM basales más altos (Summers y cols., 2008; Penny y cols., 2010).

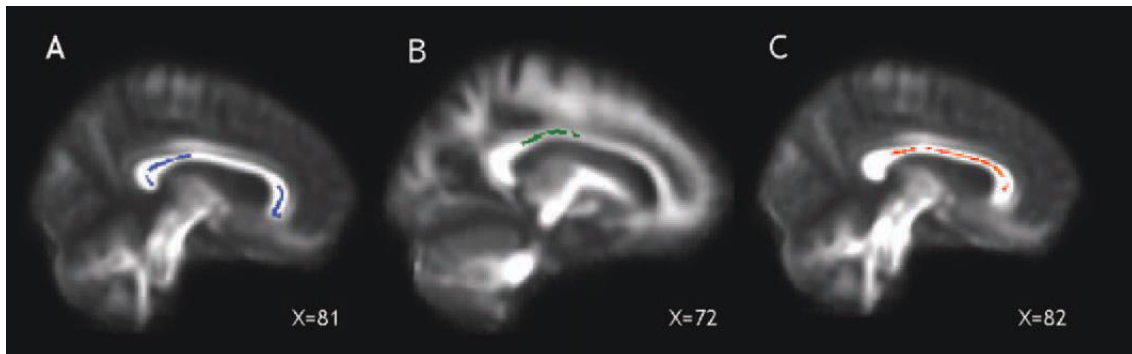
Las imágenes obtenidas mediante la técnica de tensor de difusión permiten cuantificar el grado de anisotropía de los protones de moléculas de agua *in vivo* y detectar cambios microestructurales en los tejidos. El estado de difusión anisotrópica está relacionado con la direccionalidad del agua y la integridad de los tractos de fibras de SB del tejido cerebral. Así, los haces muy densos de fibras nerviosas muestran un mayor grado de anisotropía, mientras que la SG tiene menor difusión anisotrópica (Mori y Zhang, 2006). En el caso de la EM, esta técnica se ha mostrado sensible a la alteración en la SB ‘aparentemente normal’, y es capaz de documentar daño en la corteza cerebral cuya repercusión clínica parece ser más significativa que el volumen lesional visible en

T2 (Lin y cols., 2005; Vrenken y cols., 2006). Los distintos parámetros cuantitativos computables mediante valores propios derivados del análisis de tensor de difusión, como el coeficiente de difusividad media, se encuentran aumentados en la EM, mientras que el coeficiente de anisotropía fraccionada se encuentra disminuido, reflejando estos datos el grado de alineamiento de los tractos de fibras, así como su integridad estructural (Rovaris y cols., 2002; Lin y cols., 2005).

En uno de los estudios preliminares de tensor de difusión y deterioro cognitivo, se observó una correlación moderada entre la ejecución en diversos tests neuropsicológicos, como el SDMT, tests de fluencia verbal o de aprendizaje visuoespacial y variables como el promedio de difusividad media y el promedio de la SB y SG aparentemente normal. Hay que añadir que el SDMT y los tests de fluencia verbal (no así el de memoria visuoespacial) también correlacionaron con otras variables clínicas de interés, como el volumen lesional observado en T1 y T2, así como con el promedio de difusividad media del volumen total lesionado (Rovaris y cols., 2002). Por otra parte, la ejecución de la tarea PASAT en pacientes con EM remitente recurrente ha mostrado correlaciones significativas con el aumento de la difusividad media en el cuerpo calloso (Lin y cols., 2005), o disminución de los niveles de anisotropía fraccional en los haces fronto-laterales (Roca y cols., 2008). Resultados similares también se han descrito en pacientes diagnosticados de EM benigna, en los cuales se observó una correlación entre ejecución del PASAT y disminución de anisotropía fraccionada, así como aumento de la difusividad media en el cuerpo calloso (Mesaros y cols., 2009). Estas correlaciones entre la ejecución del PASAT y una disminución de la anisotropía fraccional en diversos tractos de la SB ‘aparentemente normal’ también se han observado en el estudio de Dineen y cols., (2009). En este trabajo, otros tests neuropsicológicos como el test de fluencia verbal y aprendizaje y memoria a largo plazo, tanto verbal como espacial, también correlacionaron (al igual que la tarea PASAT) con un aumento de anisotropía fraccional en diversos tractos cerebrales de pacientes con EM de tipo RR, incluyendo regiones del cuerpo calloso (Dineen y cols., 2009). De forma similar, un reciente trabajo encontró como una reducción de la anisotropía fraccional varias regiones del cuerpo calloso era capaz de predecir el empeoramiento en diversas funciones cognitivas en pacientes EM con forma PP a los cinco años de seguimiento (Bodini y cols., 2012 -ver **Figura 3-**). Estos autores vinculan el daño en el cuerpo calloso con una alteración de la comunicación entre regiones

cerebrales importantes, y sugieren que este mecanismo contribuiría de forma importante a la aparición y progresión de los déficits cognitivos en estos pacientes (Dineen y cols., 2009; Bodini y cols., 2012).

Figura 3: Áreas del cuerpo calloso donde la reducción de la anisotropía fraccionada se relaciona con el rendimiento en tareas de: (A) memoria verbal; (B) velocidad del procesamiento de la información; y (C) funciones ejecutivas. Imagen adaptada de Bodini y cols., 2012.



Finalmente, otros autores han comprobado que la información cuantitativa aportada por las técnicas de espectroscopia, como la disminución de los niveles del metabolito N-acetil aspartato (NAA) –que aparece predominantemente en placas crónicas y refleja destrucción neuronal–, puede ser también un buen predictor del rendimiento cognitivo en pacientes con EM (Christodoulou y cols., 2003; Mathiesen y cols., 2006). Utilizando esta técnica, se muestran correlaciones significativas entre tests neuropsicológicos de aprendizaje verbal y planificación y disminuciones del NAA en zonas de la SB periventricular (Pan y cols., 2001), y un menor rendimiento en pruebas de memoria y disminución del NAA asociada al cíngulo anterior (Staffen y cols., 2005). Por otra parte, se ha asociado la peor ejecución en tests atencionales de escucha dicótica en pacientes con EM, con disminuciones en el NAA en la zona del sistema atencional activador del locus coeruleus (Gadea y cols., 2004).

Así pues, los estudios con estas técnicas más avanzadas aportan datos significativos en relación con el deterioro cognitivo de la EM. En cuanto a la disminución de los niveles de TM y su relación con el rendimiento cognitivo, los resultados son claros y contundentes, reflejando los bajos niveles de TM atrofia cerebral que se asocia con un menor rendimiento cognitivo. En cuanto a la SB aparentemente normal, ésta también parece mostrar resultados prometedores, con diversos estudios que muestran una correlación entre esta variable y el rendimiento en el test PASAT que, como hemos dicho anteriormente, se muestra sensible al deterioro cognitivo de la EM.

Respecto al uso de la espectroscopia, esta técnica ha sido menos usada, por lo que los datos sobre su utilidad en el estudio del deterioro cognitivo de esta población clínica son escasos.

1.3.3 Técnicas de Resonancia Magnética funcional

El estudio del deterioro cognitivo de la EM mediante el uso de técnicas de neuroimagen implica también el uso de la RMf. Esta técnica permite observar el funcionamiento cerebral durante la ejecución de diversos procesos cognitivos y motores, y ha demostrado la presencia de cambios en la organización funcional de pacientes con EM respecto a sujetos sanos.

En este sentido, varios trabajos realizados hasta la fecha han empleado el PASAT como tarea cognitiva, ya que como hemos descrito anteriormente, esta prueba se ha mostrado sensible para la detección de las alteraciones en velocidad del procesamiento de la información y en memoria de trabajo, que son características de esta población clínica (DeLuca y cols., 2004; Deloire y cols., 2006). Durante la ejecución del PASAT, los sujetos deben sumar diversos números (que van del uno al nueve) y que se presentan de forma aleatoria con un intervalo inter-estimular concreto (normalmente 3 o 2 segundos). Para realizar de forma eficaz la prueba, se necesita una buena capacidad de memoria de trabajo para retener los números y manipularlos, a la vez que se requiere rapidez en la manipulación/cálculo mental de estos estímulos. En relación a las bases anatómicas implicadas en la alteración de la velocidad del procesamiento en pacientes con EM, se argumenta que este enlentecimiento es el resultado de la desmielinización de la SB. Como hemos visto con anterioridad, se ha descrito un mayor número de lesiones en zonas anatómicas frontales y parietales, las cuales se describen como las responsables de una alteración de las vías de conexión de SB de larga distancia, afectando a la transmisión de la información y dando como resultado el enlentecimiento característico de esta población clínica (Au Duong y cols., 2005). En este sentido, aquellas pruebas cognitivas (como es el caso del PASAT) que reclutan las áreas frontales y parietales relacionadas con la memoria de trabajo y necesitan una correcta conexión entre ambas zonas anatómicas, parecen ser pruebas que requieren, además, una adecuada velocidad del procesamiento, y, por lo tanto, serán también pruebas válidas para la monitorización del deterioro cognitivo de la EM.

Utilizando distintas opciones metodológicas de la tarea PASAT (visual o auditiva, con respuesta verbal, mental o motora), se ha observado una mayor activación del córtex frontal y, en ocasiones, también parietal en pacientes con EM en comparación a los participantes sanos (Staffen y cols., 2002; Audoin y cols., 2003; Chiaravalloti y cols., 2005; Forn y cols., 2006). Destacan los resultados replicados en dos estudios (Audoin y cols., 2003; Forn y cols., 2006) en los que, utilizando el PASAT auditivo-verbal (similar al utilizado en la práctica clínica), se observaron activaciones compensatorias en pacientes con EM remitente recurrente con una correcta ejecución de la tarea, focalizadas en las áreas prefrontales, especialmente en el giro frontal inferior, área funcionalmente relacionada con el bucle fonológico de la memoria de trabajo (**ver Figura 4**).

Figura 4: Imágenes presentadas en convención radiológica (derecha es izquierda). Activaciones compensatorias observadas en el giro frontal inferior izquierdo en un grupo de pacientes EM con curso RR durante la realización de la tarea PASAT. Imagen adaptada de Forn y cols., 2006.



En otro estudio (Audoin y cols., 2005), se observó que estas activaciones compensatorias ya se manifiestan de forma temprana en pacientes SCA de reciente diagnóstico, y que incluso estas activaciones correlacionan con alteraciones estructurales en SB medida a través de TM. En referencia a estos estudios, podemos considerar como ‘compensatorias’ las áreas de sobreactivación observadas en el grupo de pacientes con EM ya que, en ambos casos, este grupo tenía un rendimiento normal y comparable al grupo de sujetos sanos en la tarea objeto de estudio (PASAT). Es importante destacar el hecho de que la ‘sobreactivación’ observada en los estudios de neuroimagen funcional debe ir acompañada de una correcta ejecución de la tarea para

poder ser considerada ‘compensatoria’ de un posible déficit funcional asociado a la patología cerebral.

Otros trabajos han utilizado la tarea n back, una de las pruebas más populares en el estudio de la memoria de trabajo. La tarea experimental n back (al igual que la tarea PASAT), activa el circuito cerebral fronto-parietal relacionado con la memoria de trabajo y además permite variar la carga cognitiva o, dicho de otro modo, la cantidad de estímulos que el sujeto evaluado debe manipular mentalmente. Atendiendo a estas posibilidades, la presentación de la tarea varía desde el 0 back, en el cual se debe responder a un estímulo determinado; el 1 back, donde el participante debe responder cuando el estímulo presentado sea igual al presentado con anterioridad; el 2 back, en el que el participante debe responder cuando el estímulo presentado sea igual al presentado dos veces antes; y, finalmente, el 3 back, en el que el participante debe responder cuando el estímulo presentado sea igual al presentado tres veces con anterioridad. Esta manipulación respecto al incremento de los estímulos permite estudiar la diversidad cerebral entre pacientes y controles en relación con la necesidad de utilizar una mayor o menor carga de recursos cognitivos.

De forma similar al PASAT, varios autores han observado una mayor activación durante la ejecución de la tarea n-back en zonas frontales y parietales (relacionadas con la memoria de trabajo) en pacientes con EM frente a participantes control (Penner y cols., 2003; Wishart y cols., 2004; Sweet y cols., 2004; 2006; Forn y cols., 2007; Amann y cols., 2011).

En uno de estos estudios (Penner y cols., 2003), se observaron activaciones compensatorias en pacientes EM sólo en aquellos pacientes con presencia de deterioro cognitivo considerado ‘leve’ (atendiendo a la ejecución en las tareas de RMf). En cambio, aquellos pacientes con deterioro cognitivo considerado ‘grave’ (peor rendimiento en las tareas de RMf) no presentaron más áreas activadas en relación con el grupo control en ninguna de las tareas utilizadas en el estudio. Estos datos, junto con otros trabajos en los que se seleccionan los pacientes atendiendo a la correcta ejecución de la tarea (Audoin y cols., 2003; Forn y cols., 2006; 2007) sugieren que la ‘sobreactivación’ observada en los pacientes está relacionada con el rendimiento eficiente de dichas tareas, de modo que sólo se observan activaciones ‘compensatorias’ en pacientes con un rendimiento conductual eficiente, mientras que aquellos pacientes

con una ejecución de la tarea deficitaria no presentan actividad en áreas cerebrales adicionales en comparación con el grupo de sujetos sanos (Penner y cols., 2003).

Otro hallazgo interesante en los estudios con la tarea n-back es el relacionado con el aumento de la carga cognitiva. Cabría esperar que tanto los pacientes como los controles mostraran un aumento de la activación a medida que aumenta la carga de memoria de trabajo sobretodo en regiones frontales que se relacionan con el ejecutivo central de la memoria de trabajo (Smith y Jonides, 1997; Owen y cols., 2005; Amann y cols., 2011). Teniendo en cuenta que los pacientes con EM con una correcta ejecución de la tarea sobreactivan distintas áreas cerebrales, se esperaría encontrar una mayor activación en pacientes con EM respecto a los participantes sanos, sobre todo durante aquellas tareas que requieren una mayor carga cognitiva (es decir, durante la ejecución de las tareas 2 back o 3 back). Sin embargo, la mayoría de trabajos muestra resultados opuestos, es decir, una respuesta de sobreactivación en los pacientes (respecto a un grupo de participantes sanos) durante la ejecución de tareas de memoria de trabajo que requieren menor demanda cognitiva (1 back) y una disminución de la activación en los pacientes durante tareas de mayor demanda cognitiva (2 back y 3 back -Sweet y cols., 2006; Amann y cols., 2011-). Estos resultados parecen mostrar que los pacientes con EM muestran su activación máxima en tareas de menor carga cognitiva (Sweet y cols., 2006), mientras que en el grupo de participantes sanos existe un incremento creciente de activación proporcional a la dificultad de la tarea. Otros autores proponen el concepto de ‘saturación’ de la actividad cerebral para explicar estos efectos de menor activación en el grupo de pacientes sólo observables en las tareas que requieren mayor carga cognitiva (Amann y cols., 2011).

Por otra parte, también existen trabajos de RMf que han empleado análisis de Conectividad Funcional (CF) en pacientes EM. La CF se define como la dependencia temporal de la actividad neuronal entre regiones cerebrales anatómicamente separadas (Friston y cols., 1993), y permite estudiar cómo se coordinan las diferentes regiones con el fin de ejecutar una tarea cognitiva. En este sentido, en un estudio con la tarea n-back (Cader y cols., 2006), no se observaron diferencias en el patrón de activación entre pacientes y controles sin embargo, el análisis de CF mostró diferencias de conectividad entre ambos grupos. Concretamente, los pacientes EM mostraron una reducida conectividad entre el lóbulo prefrontal dorsolateral derecho y el giro frontal superior respecto a los controles. Sin embargo, el mismo grupo de pacientes mostró un

incremento de la conectividad entre el córtex prefrontal dorsolateral derecho e izquierdo, (regiones que no estaban conectadas funcionalmente en el grupo control de manera significativa). Estas diferencias en cuanto al patrón de conectividad entre participantes sanos y pacientes también se ha descrito en otro estudio (Au Duong y cols., 2005), en el cual se utilizó la tarea PASAT en pacientes SCA. De nuevo, se han interpretado estas alteraciones de la CF en estas regiones frontales (relacionadas con las funciones ejecutivas y la memoria de trabajo), como un mecanismo de compensación que limita la manifestación del deterioro cognitivo en estos pacientes, ya que realizaban igual de bien la tarea que los sujetos control.

En otro trabajo (Bonzano y cols., 2009), se combinaron los hallazgos obtenidos mediante RMf, así como los obtenidos mediante tensor de difusión durante la realización de la tarea PASAT, para observar una posible relación entre daño estructural y reorganización funcional en pacientes con EM. Los resultados señalaron un menor rendimiento de los pacientes durante la ejecución de la tarea, así como una disminución de los valores de la anisotropía fraccional respecto a los participantes sanos, correlacionando significativamente además, ambas variables. Por otra parte, los resultados del análisis funcional revelaron activaciones más bilaterales localizadas en el circuito fronto-parietal de la memoria de trabajo en los pacientes en comparación con los participantes sanos (que mostraban un mayor predominio de activaciones focalizadas en el hemisferio izquierdo). Finalmente, los pacientes fueron divididos en función del valor de la anisotropía fraccional, distinguiendo a un grupo de pacientes con un valor disminuido (pacientes con mayor alteración de SB de apariencia normal) y otro grupo que presentaba niveles más altos. En referencia a esta distinción, los pacientes con mayor alteración de la SB mostraron un patrón de activación de la tarea más bilateral, que no se observaba en el grupo de pacientes con escasa alteración de SB, los cuales, al igual que el grupo de participantes sanos, mostraban una activación de mayor predominio izquierdo durante la ejecución del PASAT. Estos resultados sugieren una relación entre las activaciones compensatorias o adicionales observadas mediante RMf y el daño cerebral observado en la SB en pacientes EM. Finalmente, es importante destacar que ambos grupos de pacientes (con altos y bajos niveles de anisotropía) mostraron un rendimiento similar en la ejecución de la tarea PASAT, destacando una vez más que existe una clara relación entre la correcta ejecución de la tarea y activaciones compensatorias.

En resumen, los estudios de RMf en relación al deterioro cognitivo en la EM han aportado información complementaria a los trabajos de RM estructural. En este sentido, los trabajos de RMf han demostrado en EM la existencia de un patrón alterado de activación cortical respecto a los sujetos sanos durante la realización de diferentes tareas relacionadas con la memoria de trabajo. Parece que, durante las primeras fases de la enfermedad, esta reorganización funcional (en forma de una activación más extensa, o una mayor conectividad entre regiones) refleja un mecanismo adaptativo mediante el cual los pacientes pueden mantener un rendimiento cognitivo “eficiente”. Esta reorganización, además, también parece estar relacionada con la acumulación del daño estructural.

1.3.4 Técnicas de Resonancia Magnética funcional en estado de reposo

De forma más reciente, diversos trabajos de RMf han estado dirigidos al estudio de la actividad cerebral intrínseca en estado de reposo (resting state). Durante mucho tiempo, esta actividad cerebral de baja frecuencia, espontánea y no relacionada con la ejecución de tareas, se consideraba ruido aleatorio y no era aprovechada. Sin embargo, con el paso de los años se ha comprobado que estas activaciones no son aleatorias, sino que constituyen patrones de actividad cortical organizados y sincronizados entre diferentes regiones cerebrales. Estos patrones representan sistemas funcionales o redes cerebrales intrínsecas que se manifiestan de forma consistente en los diferentes estudios a pesar incluso de las diferencias metodológicas de adquisición y análisis de neuroimagen (Moussa y cols., 2012).

Los estudios de RMf en estado de reposo poseen la ventaja de ser un método libre de tarea. Los trabajos de RMf descritos previamente que emplean tareas presentan dos inconvenientes: en primer lugar, estos estudios deben asegurar que el rendimiento del grupo de pacientes en la tarea sea similar al del grupo control; y en segundo lugar, se debe tener en cuenta que las diferencias halladas en los patrones de activación en estos estudios pueden estar relacionadas con el uso de diferentes estrategias individuales a la hora de realizar la tarea. Estos hechos pueden dificultar la interpretación de los resultados (Cader y cols., 2006). En este sentido, los estudios en estado de reposo son sencillos de implementar y además, fácilmente reproducibles (Fox y Greicius, 2010), ya que las únicas instrucciones que se dan a los participantes es que permanezcan lo más

inmóviles posible dentro del scanner, con los ojos cerrados e intentando no pensar en nada.

Dos son las técnicas más empleadas para analizar la actividad cerebral espontánea en estado de reposo (Proal y cols., 2011). Por un lado encontramos los modelos dependientes de hipótesis, también conocidos como análisis ROI (por sus siglas del inglés *region of interest*) o análisis de vóxel semilla. En este método se selecciona una región de interés del cerebro también llamada semilla a priori (en base a una hipótesis) y se analiza cómo se conecta funcionalmente con otra ROI o con todos los vóxeles del resto del cerebro.

Por otro lado, encontramos los modelos dirigidos por los datos (también llamados independientes de hipótesis), que representan método exploratorio para identificar redes neuronales sin necesidad de partir de una región de interés ni una hipótesis previa. Esta técnica se basa en la descomposición de los datos de la RMf mediante un análisis de componentes independientes (ICA). Esta técnica separa o descompone las series temporales de las fluctuaciones detectadas para identificar y extraer componentes independientes que reflejarían circuitos funcionales o redes cerebrales. De esta forma, diferentes trabajos que han empleado el análisis ICA han identificado de forma consistente diferentes redes en estado de reposo (resting state networks -RSN-).

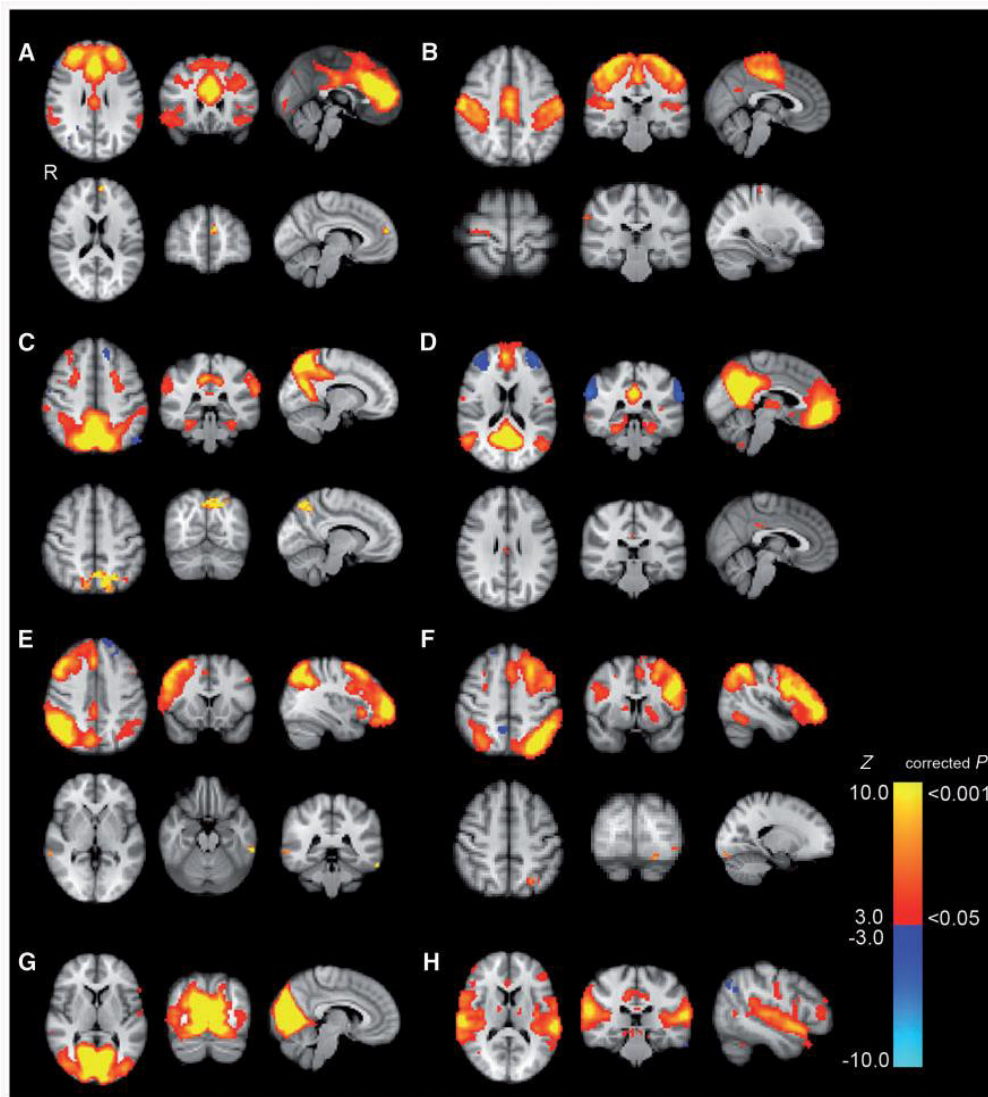
La red más conocida y estudiada ha sido la red de activación por defecto o DMN (del inglés *default mode network*). Esta red está compuesta por una serie de regiones cerebrales interconectadas, incluyendo a nivel bilateral el córtex cingulado posterior y anterior, el precuneus, el lóbulo parietal inferior y el giro temporal medio (Raichle y cols., 2001). Los estudios han señalado que la DMN se muestra muy activa en estado de reposo, al tiempo que durante la ejecución de tareas muestra una marcada deactivación (Greicius y Menon, 2004; Fox y cols., 2005). Esta red se ha relacionado con procesos de introspección o monitorización de estados internos y con la memoria autobiográfica (Buckner y cols., 2008; Supekar y cols., 2010), y diferentes estudios han relacionado alteraciones en su actividad con diferentes patologías, incluyendo la enfermedad de Alzheimer (Greicius y cols., 2004), el autismo (Assaf y cols., 2010), la esquizofrenia y la depresión (Whitfield-Gabrieli y Ford, 2012).

Por otro lado, también se han identificado otras redes en estado de reposo. Entre las más reportadas en la literatura, encontramos la red sensoriomotora (implicada en el procesamiento sensitivo y motor), varias redes relacionadas con el procesamiento perceptivo (tanto a nivel visual como auditivo), y finalmente, otras redes relacionadas con el funcionamiento cognitivo como la red fronto-parietal (en algunos casos identificada como una única red y en otros dividida en izquierda y derecha).

La medida más empleada en los estudios de RMf en estado de reposo es la de Conectividad Funcional (CF), que ya hemos descrito previamente. Al igual que se han observado diferencias en la conectividad o sincronización entre regiones en pacientes EM en relación a diferentes tareas cognitivas, también se han observado alteraciones de la CF en estado de reposo en esta población clínica (centrándose principalmente en la DMN).

Son escasos los trabajos que han analizado diferencias de CF en estado de reposo en pacientes EM respecto a controles. De estos estudios, se puede extraer la idea que los pacientes con SCA o EM de reciente diagnóstico muestran un aumento de la CF en diferentes redes respecto a los controles (Roosendaal y cols., 2010; Faivre y cols., 2012) o respecto a pacientes EM con mayor duración de la enfermedad (Roosendaal y cols., 2010 -**ver figura 5**-). Sin embargo, a medida que la enfermedad evoluciona y el daño estructural cerebral se acumula, este aumento de CF desaparece y lo que se observa es un decremento de la conectividad respecto a los controles (Rocca y cols., 2010). Cabe destacar que estos dos procesos (aumento y decremento de la CF) pueden darse simultáneamente, tal y como se ha visto en algunos estudios (Cader y cols., 2006; Bonavita y cols., 2011). En el trabajo de Bonavita y cols., (2011), se observó cómo pacientes EM de tipo RR mostraron tanto un aumento de la conectividad en las regiones periféricas de la DMN así como un decremento de la conectividad en regiones de la línea media en el mismo circuito (cingulado anterior y posterior) en comparación con el grupo control.

Figura 5: La fila superior indica las redes en estado de reposo identificadas con el análisis de componentes independientes. La fila inferior muestra los aumentos de CF en los pacientes SCA respecto a pacientes EM o sujetos control. (A) Red de funcionamiento ejecutivo. (B) Red sensoriomotora. (C) Red atencional ventral y dorsal. (D) Red de activación por defecto. (E) Red fronto-parietal derecha. (F) Red fronto-parietal izquierda. (G) Red de procesamiento visual. (H) Red de procesamiento auditivo y de lenguaje. En estas últimas dos redes no se observaron diferencias significativas entre grupos. Imagen adaptada de Roosendaal y cols., 2010.



Algunos trabajos que han estudiado la conectividad en estado de reposo en relación con el estado cognitivo de pacientes EM, han señalado de forma más específica un aumento de la CF en pacientes EM sin deterioro cognitivo respecto a pacientes con deterioro cognitivo (Rocca y cols., 2010; Roosendaal y cols., 2010; Sumowski y cols., 2013). Este aumento de la CF también se ha relacionado de forma negativa con el grado de daño estructural (reflejado en medidas como la atrofia global en SG o el coeficiente

de anisotropía fraccionada en diferentes tractos de SB). En este sentido, este aumento de la CF en estado de reposo se ha interpretado como un posible mecanismo compensatorio en estadios iniciales de la enfermedad, que se manifiesta mientras que el daño estructural no sobrepasa cierto umbral, pero que desaparece a medida que se acumula daño estructural con la evolución de la enfermedad, coincidiendo con la manifestación de los déficits cognitivos (Roosendaal y cols., 2010). De hecho, se ha sugerido que los cambios de actividad de la DMN concretamente, podrían representar un buen marcador del deterioro cognitivo en pacientes EM, ya que en el estudio de Sumowski y cols., (2013), se observó que el grado de activación de esta red predecía el rendimiento en memoria episódica de forma más consistente que la atrofia cerebral.

Sin embargo, también encontramos estudios que, de manera opuesta, han encontrado una correlación negativa entre la CF y el rendimiento cognitivo (Hawellek y cols., 2011; Faivre y cols., 2012), poniendo en entredicho la hipótesis previa del mecanismo compensatorio. Esta diversidad de resultados podría estar relacionada con variabilidad de la metodología empleada o la heterogeneidad de las muestras de pacientes reclutadas en los distintos estudios (abarcando diferentes subtipos de pacientes EM). También en algunos estudios, los pacientes no han sido ampliamente evaluados a nivel neuropsicológico (en algunos estudios el único test neuropsicológico empleado es el PASAT), ni clasificados en cuanto al grado de rendimiento cognitivo.

En resumen, los estudios de RMf funcional en estado de reposo presentan la ventaja de no necesitar ninguna tarea en su diseño, lo que facilita en gran medida su implementación y la interpretación de los resultados hallados. Esta metodología se ha consolidado como una aproximación fiable y eficaz para el estudio de la actividad de diferentes redes cerebrales. En este sentido, varios trabajos han puesto de manifiesto la existencia de alteraciones de conectividad en pacientes EM que parecen representar, de nuevo, mecanismos de compensación a los déficits cognitivos. No obstante, la mayoría de estudios se han limitado a analizar posibles alteraciones en la red DMN, por lo que consideramos necesario que los futuros estudios exploren alteraciones en otras redes cerebrales de interés que son de especial interés en la patología de la EM, como las redes fronto-parietales.

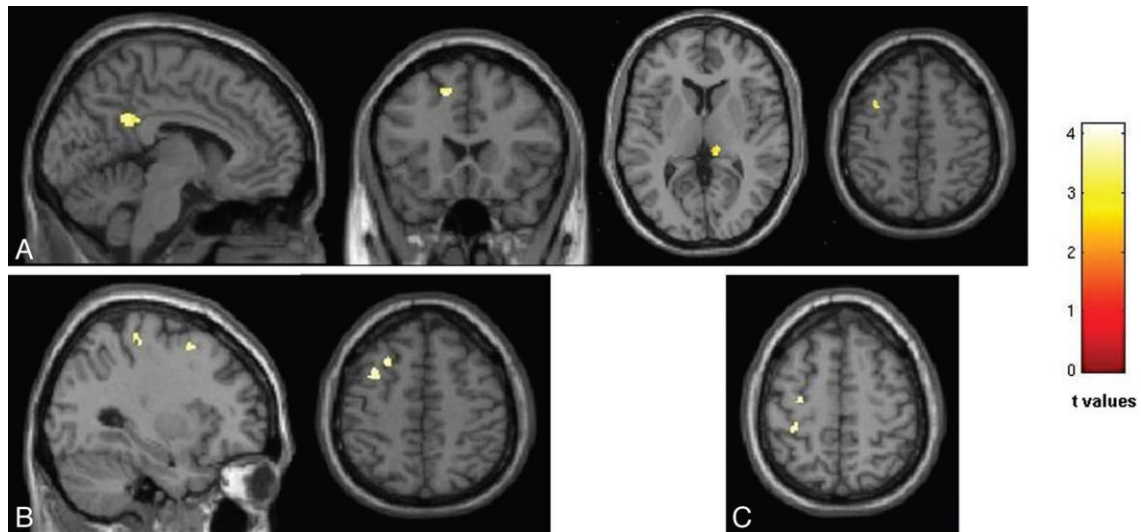
1.4 Neuroimagen de la fatiga en la EM

Como hemos descrito con anterioridad, la fatiga también representa otro de los síntomas más incapacitantes de la EM junto al deterioro cognitivo. Durante los últimos años, diversas investigaciones han tenido por objetivo estudiar las bases fisiológicas de este síntoma. Así, encontramos en la literatura diversos trabajos con RM que han contribuido de forma importante al hallazgo de posibles variables relacionadas con la fatiga en esta población clínica.

Cabe mencionar que aunque los estudios más antiguos no encontraron relación entre la fatiga en la EM y ninguna medida de RM (van der Werf y cols., 1998; Bakshi y cols., 1999), las investigaciones más recientes sí han encontrado relación entre dicho síntoma fatiga y variables como la atrofia cerebral o la carga lesional tanto a nivel global como a nivel regional (Marrie y cols., 2005; Niepel y cols., 2006; Tedeschi y cols., 2007; Sepulcre y cols., 2009b; Andreasen y cols., 2010; Pellicano y cols., 2010; Riccitelli y cols., 2011b; Induruwa y cols., 2012). Es posible que la falta de resultados significativos en los primeros estudios pueda deberse a la antigüedad y falta de sensibilidad de los métodos de análisis empleados en éstos (ej. empleo de técnicas de cuantificación manual de la atrofia en vez de técnicas más novedosas de cuantificación automática).

A nivel regional, varios estudios volumétricos han relacionado la presencia de alteraciones estructurales (tanto lesiones como atrofia) en áreas primordialmente parietales y frontales (**ver Figura 6**), así como en regiones subcorticales (como el tálamo y los ganglios basales) con la presencia de fatiga en pacientes EM (Colombo y cols., 2000; Niepel y cols., 2006; Sepulcre y cols., 2009b; Andreasen y cols., 2010; Pellicano y cols., 2010; Riccitelli y cols., 2011b).

Figura 6: Regiones de atrofia en sustancia gris. (A): pacientes EM respecto a controles; (B) pacientes EM con fatiga respecto a controles; y (C): pacientes EM con fatiga respecto pacientes EM sin fatiga. Imagen adaptada de Riccitelli y cols., 2011b.



En congruencia con estos resultados, estudios con espectroscopia de RM han encontrado una disminución de NAA global en pacientes con fatiga respecto a pacientes sin fatiga (Tartaglia y cols., 2004), así como regionalmente en el núcleo lentiforme (Téllez y cols., 2008). Este resultado respalda la idea de la contribución de los ganglios basales en la manifestación de la fatiga en la EM.

Los estudios con RMf también han aportado evidencia acerca de una disfunción de los circuitos motores. En este sentido, existen trabajos que han asociado alteraciones en la activación de estos circuitos en pacientes EM con fatiga respecto a pacientes EM sin fatiga durante la ejecución de tareas motoras (Filippi y cols., 2002; Rocca y cols., 2009; White y cols., 2009).

En conclusión, observamos como diversos estudios han señalado alteraciones localizadas principalmente en los lóbulos frontales y parietales, los ganglios basales y el tálamo. Estas regiones forman parte de circuitos cortico-subcorticales que se relacionan con la planificación y ejecución de las funciones motoras, por lo que se ha propuesto que una disfunción de estos circuitos podría representar el sustrato principal de la fatiga (Filippi y cols., 2002; Niepel y cols., 2006; Andreasen y cols., 2010; Leavitt y DeLuca, 2010).

También se han realizado estudios de CF en estado de reposo analizando la actividad de la red sensoriomotora en relación a las alteraciones motoras en pacientes EM (Roosendaal y cols., 2010; Faivre y cols., 2012; Dogonowski y cols., 2013). Resulta razonable pensar que esta red que se relaciona con las funciones sensitivas y motoras podría estar relacionada con la fatiga; sin embargo, hasta la fecha no hay estudios que hayan explorado una posible relación entre ellas en esta población clínica.

CAPITULO 2: Marco Experimental

2.1 Planteamiento experimental

El interés en el estudio del deterioro cognitivo y la fatiga en la EM ha aumentado de forma considerable durante los últimos años, a medida que se ha ido tomando conciencia sobre su elevada prevalencia y el impacto que ambos tienen sobre la calidad de vida de estos pacientes. Este interés ha generado un auge de investigaciones dirigidas a identificar variables fisiopatológicas cerebrales relacionadas con estos dos síntomas, que se han apoyado en el empleo de diferentes técnicas de neuroimagen.

Concretamente, la RM ha demostrado su utilidad como una de las técnicas más sensibles para detectar y relacionar la presencia de alteraciones estructurales con variables clínicas de interés en la enfermedad. Así, diferentes trabajos de RM han vinculado tanto la fatiga como los déficits cognitivos de esta población clínica con diferentes variables radiológicas, entre las cuales destacan las lesiones (Colombo y cols., 2000; Archibald y cols., 2004; Lazeron y cols., 2005; Tedeschi y cols., 2007; Sepulcre y cols., 2009b; Andreasen y cols., 2010; Rossi y cols., 2012), diferentes medidas relacionadas con la pérdida de volumen cerebral o atrofia (Chaudhuri y Behan, 2000; Zivadinov y cols., 2001; Marrie y cols., 2005; Benedict y cols., 2006b; Niepel y cols., 2006; Amato y cols., 2007; Tedeschi y cols., 2007; Sepulcre y cols., 2008; Sicotte y cols., 2008; Téllez y cols., 2008; Roosendaal y cols., 2009; Sastre-Garriga y cols., 2009; Tiemann y cols., 2009; Calabrese y cols., 2009, 2010; Andreasen y cols., 2010; Pellicano y cols., 2010), y alteraciones en tejido cerebral aparentemente normal captadas con técnicas no convencionales (Tartaglia y cols., 2004; Lin y cols., 2005; Bodini y cols., 2012).

Los estudios con RM estructural más recientes se han visto reforzados por el uso de nuevas técnicas y herramientas de análisis. En primer lugar, la normalización de las imágenes cerebrales (proceso mediante el cual los diferentes cerebros se llevan a un espacio estándar y se permite su comparación), es un paso fundamental en los análisis de RM, especialmente cuando se trata de cerebros “anormales”. Como hemos visto, la localización de las lesiones en la EM es muy heterogénea, por lo que resulta fundamental un tratamiento adecuado de estas lesiones para evitar posibles distorsiones en la normalización de las imágenes cerebrales, que podrían sesgar los resultados obtenidos (Ripollés y cols., 2012). En la actualidad, se disponen de diferentes técnicas para subsanar este efecto. Por otro lado, la técnica de la morfometría basada en el vóxel

(del inglés *voxel based morphometry –VBM-*), ha demostrado su utilidad en tanto que permite no sólo la cuantificación de las alteraciones estructurales sino también su localización topográfica precisa. Además, el uso complementario de herramientas de análisis recientemente desarrolladas, como el *Dimorphic Diffeomorphic Anatomical Registration Exponentiated Lie algebra (DARTEL)*, optimiza el registro y la normalización de las imágenes cerebrales, permite un análisis más preciso y fiable de la localización de estas alteraciones. En este sentido, esta metodología ha posibilitado el desarrollo de estudios pioneros que han evidenciado una relación entre alteraciones en regiones específicas del cerebro con los déficits cognitivos (Riccitelli y cols., 2011a; Bodini y cols., 2012) así como con la fatiga (Riccitelli y cols., 2011b). Sin embargo, debido a la novedad de esta metodología, los trabajos hasta la fecha que la han empleado son escasos todavía. De este modo, consideramos de especial relevancia que se realicen más estudios aprovechándose de las ventajas que ofrecen estas técnicas, ya que pueden aportar más evidencias sobre el papel de diferentes estructuras o regiones anatómicas concretas en relación al deterioro cognitivo y la fatiga en la EM.

Por otro lado, encontramos como la mayoría de los estudios de RM realizados hasta la fecha se caracterizan por una amplia diversidad metodológica, que dificulta el establecimiento de conclusiones sólidas y generalizables. En primer lugar, observamos una amplia variedad en los análisis para cuantificar el daño cerebral así como en los instrumentos empleados en las investigaciones para evaluar el deterioro cognitivo y la fatiga. Por otro lado, también encontramos en la literatura diferentes criterios para clasificar a los pacientes como deteriorados o preservados a nivel cognitivo. En algunos trabajos, los pacientes son clasificados en función de su rendimiento en un único test neuropsicológico, sin evaluar todas las áreas cognitivas. También es frecuente encontrar estudios con muestras de pacientes pequeñas o heterogéneas (que incluyen pacientes con diferentes subtipos de enfermedad o con características clínicas muy dispares).

En relación a estos inconvenientes, en los trabajos presentados a continuación, todos los pacientes han sido evaluados a nivel neuropsicológico de forma exhaustiva con la batería BRB-N. El criterio empleado para clasificar a los pacientes EM con deterioro cognitivo ha sido el de obtener una puntuación por debajo de dos desviaciones típicas respecto a los valores normativos en al menos un subtests de la batería BRB-N. Existen trabajos que han utilizado criterios más conservadores para esta clasificación

(ej. dos subtests fallados en vez de uno), que a nuestro parecer corren el peligro de subestimar el deterioro cognitivo en esta población clínica. Por último, contamos con una amplia muestra de 92 pacientes con EM, de curso RR y SP (que representa la evolución del subtipo RR).

Con estos antecedentes, en nuestro primer trabajo empleamos la metodología del VBM para analizar a nivel regional la presencia de alteraciones estructurales relación al deterioro cognitivo en la EM. Para el análisis de las diferencias morfométricas utilizamos la secuencia adquirida en T1 MPRAGE, que se ha mostrado sensible para la detección de las lesiones en SB y en SG. En este estudio también realizamos un adecuado análisis de las lesiones para evitar posibles distorsiones en la normalización de las imágenes cerebrales. De este modo, nuestro objetivo es analizar la implicación de la localización de la atrofia en SG, de las lesiones en SB, y de forma novedosa, de la atrofia en SB en el rendimiento cognitivo en pacientes con EM. Hemos visto como varios estudios han relacionado alteraciones en la SB con el deterioro cognitivo en la EM, aunque ninguno ha objetivado estas alteraciones en forma de atrofia mediante VBM. En este sentido, creemos que el análisis de la atrofia en SB con VBM puede aportar resultados interesantes, y de esta forma, ofrecer una visión más amplia del sustrato patológico vinculado al deterioro cognitivo de esta enfermedad al analizar de forma conjunta la alteración en SG y en SB (tanto en forma de atrofia como de lesiones).

Por otra parte, aunque los estudios de RM estructural han mostrado resultados interesantes y consistentes entre la alteraciones anatómicas y el deterioro cognitivo y la fatiga, se deben tener en cuenta la existencia de procesos de neuroplasticidad o reorganización funcional, que parecen influir en la manifestación de estos síntomas. Estos procesos han sido evidenciados a través de diferentes estudios con RMf, y son de especial relevancia ya que además, están relacionados con la acumulación de daño tisular. Así, varios trabajos han señalado alteraciones en el patrón de activación cerebral en pacientes EM durante la realización de diferentes tareas en relación con la fatiga y con el rendimiento cognitivo (Filippi y cols., 2002; Audoin y cols., 2003; Forn y cols., 2006, 2007; 2012; Rocca y cols., 2009; White y cols., 2009). Concretamente, estos estudios han señalado cómo los pacientes EM muestran activaciones más extensas o reclutan más áreas para la realización de las tareas, hallazgo que ha sido frecuentemente

interpretado como un mecanismo adaptativo de compensación de carácter temprano que limita la manifestación de los déficits funcionales en respuesta a la acumulación de daño estructural. De este modo, resulta esencial que estos procesos sean tenidos en cuenta, en tanto que parecen tener un papel intermediario entre la acumulación del daño estructural y la manifestación de las alteraciones cognitivas y la fatiga en esta enfermedad.

Sin embargo, los estudios de RMf presentan ciertos inconvenientes asociados a la introducción de una tarea en el diseño experimental que pueden dificultar la interpretación de los resultados hallados, como por ejemplo, tener que asegurarse de que todos los grupos experimentales muestren un rendimiento similar en ella y la realicen siguiendo las mismas estrategias. En relación a esta idea, los estudios de RMf más recientes han ido orientados al estudio de la actividad cerebral en estado de reposo, sin necesidad de que los sujetos estén realizando ninguna tarea. De esta forma, el análisis de RMf en estado de reposo se ha consolidado como un método sencillo, útil y de fácil aplicación, que además facilita la interpretación de los resultados hallados ya que se elimina la tarea y las variables relacionadas con su ejecución.

Una de las medidas más estudiadas mediante esta metodología ha sido la de la conectividad funcional (CF), que permite explorar en qué medida están conectadas diferentes áreas cerebrales entre sí. En una enfermedad como la EM, creemos que es de especial interés el estudio de la CF, ya que como se ha descrito anteriormente, las lesiones características de esta patología que dañan los tractos de SB pueden alterar la comunicación entre diferentes regiones cerebrales. Diferentes trabajos han respaldado esta idea, describiendo alteraciones de CF entre diferentes regiones cerebrales en pacientes EM respecto a sujetos sanos. Además, estas alteraciones de CF muestran una relación con variables clínicas de interés, ya sean motoras o cognitivas, que de nuevo, se interpretan en términos de un mecanismo compensatorio en los pacientes (Rocca y cols., 2010; Roosendaal y cols., 2010; Bonavita y cols., 2011; Hawellek y cols., 2011; Faivre y cols., 2012; Dogonowski y cols., 2013).

Sin embargo, debido a la novedad de la técnica, los estudios con RMf en estado de reposo con pacientes EM se encuentran todavía en un estado incipiente, por lo que creemos que se necesitan más investigaciones al respecto para corroborar los resultados hallados. Además, observamos cómo la mayoría de trabajos en relación al rendimiento cognitivo de estos pacientes se han centrado en el estudio exclusivamente de regiones

pertenecientes a la red de activación por defecto (DMN). En este sentido, consideramos de especial relevancia explorar alteraciones de CF en otras redes cerebrales de interés en esta enfermedad, que se hallan implicadas en el funcionamiento cognitivo y que han demostrado ser especialmente sensibles a la fisiopatología de la enfermedad, como es el caso de la red fronto-parietal. Precisamente, nuestro segundo estudio está dirigido a explorar posibles alteraciones de CF en relación con el deterioro cognitivo en la EM en otras redes además de la DMN, como es el caso de las redes fronto-parietales o de la red *salience*, todas involucradas con el funcionamiento cognitivo y en las cuáles pensamos encontrar alteraciones de conectividad en esta enfermedad. Para ello, realizamos un Análisis de Componentes Independientes, que es un método que ofrece la ventaja de poder analizar la conectividad funcional de varias redes en estado de reposo sin necesidad de establecer una región de interés o semilla previamente.

Por último, el tercer estudio presentado en esta tesis está motivado por la ausencia de trabajos dirigidos a explorar una posible asociación entre alteraciones de conectividad en estado de reposo y fatiga en pacientes con EM. En este trabajo, nos planteamos explorar posibles diferencias de CF en regiones sensoriomotoras en relación a la fatiga, ya que varios estudios previos han sugerido la existencia de alteraciones estructurales en estas áreas. Además, también exploramos de forma conjunta la posible presencia de alteraciones morfológicas asociadas a la fatiga, en forma de atrofia en SG y SB, para relacionar el daño estructural con posibles alteraciones funcionales.

2.2 Objetivos e Hipótesis

El objetivo general de esta tesis es contribuir al esclarecimiento de las bases neurobiológicas cerebrales tanto (a nivel anatómico y funcional) implicadas en dos de los síntomas más incapacitantes y prevalentes en la EM: el deterioro cognitivo y la fatiga.

De forma más específica, los objetivos concretos son:

1. Analizar la relación entre las alteraciones estructurales en SG y SB (en forma de atrofia y lesiones) en un grupo de pacientes con EM y su relación con el rendimiento cognitivo.
2. Explorar posibles diferencias de conectividad funcional en diferentes redes cerebrales en estado de reposo en relación con el deterioro cognitivo y con variables relacionadas con el daño estructural en la EM.
3. Analizar la relación entre la atrofia en SG y SB y la fatiga en la EM.
4. Explorar posibles diferencias de conectividad funcional en estado de reposo en regiones de la red sensoriomotora en relación a la fatiga en la EM

En base a estos objetivos expuestos, formulamos las siguientes hipótesis:

- Hipótesis 1: Existirá un mayor grado de atrofia en SG, atrofia en SB y una distribución de lesiones en SB más extensa en los pacientes EM con deterioro cognitivo respecto a los pacientes EM sin deterioro cognitivo. Además, la pérdida de volumen en SG y SB, y la distribución de lesiones correlacionarán con el rendimiento cognitivo.
- Hipótesis 2: Esperamos encontrar en pacientes EM sin deterioro cognitivo un aumento de la conectividad funcional en diferentes redes cerebrales en estado de reposo respecto a pacientes EM con deterioro cognitivo y controles. Este aumento sería sugestivo un mecanismo de compensación a los déficits cognitivos. También esperamos que el aumento de conectividad funcional correlacione de forma positiva

con el rendimiento cognitivo y de forma negativa con diferentes medidas de daño estructural.

- Hipótesis 3: En los pacientes EM clasificados con fatiga, observaremos un mayor grado de atrofia en SG y SB en comparación con aquellos clasificados pacientes sin fatiga. Creemos que el grado de atrofia se correlacionará de forma directa con la severidad de la fatiga.
- Hipótesis 4: También esperamos encontrar en los pacientes EM sin fatiga, un aumento de la conectividad funcional en regiones pertenecientes a la red sensoriomotora respecto a pacientes EM con fatiga y controles, de nuevo interpretándolo como un mecanismo de compensación a la manifestación de la fatiga. También esperamos hallar una correlación entre la conectividad funcional y la severidad de la fatiga en estos pacientes.

2.3 Metodología

Todos los estudios han sido realizados gracias a la derivación de pacientes EM del servicio de Neurología del Hospital General de Castellón de la Plana. De forma específica, reclutamos a 92 pacientes EM para nuestros estudios con un rango de edad entre 20 y 58 años. Concretamente, 68 pacientes tenían un diagnóstico de EM RR mientras que 24 tenían un diagnóstico de EM tipo SP. Comprobamos que no mostraran indicios de abuso de alcohol o de otras drogas, así como de antecedentes de otras enfermedades psiquiátricas y neurológicas. Además, también fueron excluidos aquellos pacientes que hubiesen padecido un brote clínico y/ o hubiesen recibido tratamiento con corticosteroides en un intervalo menor de dos meses previos a la investigación. El grupo control está formado por una muestra de 23 personas con un rango de edad de 22 a 54 años, sin antecedentes de enfermedades neurológicas ni abuso de sustancias.

Todos los participantes fueron evaluados a nivel neuropsicológico con la batería Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test (BRB-N), empleando la versión validada y traducida para población de habla castellana (Sepulcre y cols., 2006). Durante la realización de las valoraciones neuropsicológicas, también fueron administradas la Escala de Severidad de Fatiga (Bulbena y cols., 2000) y el Inventario Multiescalar de Depresión Chicago (IMDC), desarrollado por Nyenhuis y cols., (1998). De forma adicional, el grupo de pacientes fue evaluado a nivel neurológico con la escala EDSS (Kurtzke, 1983) para cuantificar el grado de incapacidad física.

De forma paralela a las valoraciones neuropsicológicas, fueron adquiridas en el scanner de Resonancia Magnética funcional del Hospital General de Castellón las imágenes cerebrales de todos los participantes: un volumen anatómico 3D sagital MPRAGE en T1 para el análisis morfométrico y una secuencia funcional en estado de reposo para los análisis de conectividad funcional. Durante la secuencia funcional, la única instrucción que se daba a los participantes era que permanecieran lo más quietos posibles y con los ojos cerrados, intentando no dormirse y dejar la mente en blanco.

La presente tesis está compuesta por tres estudios ya publicados, en prensa o sometidos en revistas internacionales, por lo que están escritos en inglés. Concretamente, el primer estudio (Cruz-Gómez AJ, Belenguer A, Ventura-Campos N, García Panach J, Ávila C, and Forn C. A voxel-based morphometry study of multiple

sclerosis patients: The relationship between distribution of gray and white matter atrophy and clinical variables) está actualmente sometido a revisión. El segundo estudio ha sido aceptado para publicación en la revista *Multiple Sclerosis* (Cruz-Gómez AJ, Ventura-Campos N, Belenguer A, Ávila C and Forn C (2013) The link between resting-state functional connectivity and cognition in MS patients). Por último, el tercer trabajo ha sido recientemente publicado en *PLoS One* (Cruz-Gómez AJ, Ventura-Campos N, Belenguer A, Ávila C and Forn C (2013) Regional brain atrophy and functional connectivity changes related to fatigue in multiple sclerosis).

2.4 Estudio 1

Distribution of gray and white matter atrophy in cognitively impaired and preserved patients with multiple sclerosis: a voxel-based morphometry study

Cruz-Gómez AJ, Belenguer A, Ventura-Campos N, García Panach J,

Ávila C, and Forn C.

(Sometido a revisión)

Abstract:

Objective: We explored the relationship between the distribution pattern of gray matter (GM) and white matter (WM) atrophy and lesions in a group of multiple sclerosis (MS) patients and their cognitive status. **Methods:** 92 MS patients were neuropsychologically and radiologically assessed, categorized as cognitively impaired (CI) or cognitively preserved (CP) based on scores on the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests, and compared with 23 healthy controls. Voxel-based statistical analysis was performed to observe the distribution of lesions, GM and WM atrophy, and differences among groups. Furthermore, the relationship between lesions, atrophy, and cognitive Z scores on the BRB-N was observed in a regression analysis. **Results:** CI and CP patients exhibited a similar lesion distribution and no differences were observed between groups, although CI patients showed a more widespread pattern with more lesions focused in the anterior corona radiata. Regarding GM and WM atrophy, CI patients showed widespread atrophy in both tissues, and significant differences were observed between groups with CI patients showing more atrophy in different cortical and subcortical areas. Regression analysis showed that global Z scores and attention and executive functions Z scores correlated with GM and WM atrophy in CI patients in areas such as the frontal and parietal cortices, cingulate gyrus, and thalamus, which especially contributed to cognitive impairment in MS. **Conclusions:** We confirm the significant role of GM and WM atrophy in cognition in MS and that some cerebral areas are the target of MS cognition, which causes a characteristic disconnection deficit in these patients.

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory demyelinating disease of the central nervous system, involving degenerative processes that include focal lesions and progressive cerebral atrophy (Bendfeldt et al. 2010; Filippi et al. 2012; Pirko et al. 2007). Pathological changes in MS produce heterogeneous deficits among which physical and cognitive disability must be highlighted as central deficits of the disease.

Magnetic resonance imaging (MRI) is a tool that has helped to improve our understanding of the pathological factors associated with the MS disease in recent years (Filippi et al. 2012); however, the relationship between gray matter (GM) and white matter (WM) atrophy in MS patients is not well understood. It seems that WM changes are accompanied by demyelination in GM (Kutzelnigg et al. 2005), but a central question is how GM and WM damage interacts and contributes to disability in MS patients. In most studies, WM damage has been measured as lesion volume (LV) observed in T1 and T2, which reflects definitive tissue damage. Although there is no straightforward link between focal lesions and cognitive impairment (Filippi et al. 2010), the role of GM atrophy in cognitive impairment in MS patients has received increased interest and seems to be more related to cognitive deficits in these patients (Filippi et al. 2010; Grassiot et al. 2009). Concerning the relationship between lesions and atrophy, some authors have reported that it is GM volume, rather than WM volume, that is negatively correlated with LV, suggesting that WM volume is partly independent of the genesis of lesions (Grassiot et al. 2009). Although WM lesions seem to be less relevant to explaining cognitive impairment in MS, a recent study has observed that the localization of lesions could be an important factor to explain cognitive impairment in MS patients (Rossi et al. 2012).

Studies that analyze the localization of lesions and brain atrophy in MS patients have benefited from current image processing techniques such as voxel-based morphometry (VBM) (Mechelli et al. 2005). The use of VBM to study MS only recently began but has already provided insight into the relationship between tissue loss and clinical characteristics of MS patients (Riccitelli et al. 2011). This approach helps to us observe the distribution and localization of volume reduction voxel by voxel, not only of GM but also of WM (Filippi et al. 2012; Riccitelli et al. 2012). This localization of atrophy could be important for understanding clinical cognitive impairment in MS

patients, and for identifying the site of WM lesions that seems to be related to the disconnection phenomena of the MS disease (Filippi et al. 2012; Rossi et al. 2012).

Based on the relevance of GM and WM pathology to MS and its relationship with cognitive impairment, the aim of the present study is to observe the relationship between cognitive impairment, and the distribution and localization not only of GM atrophy but also WM pathology in subgroups of MS patients divided by their cognitive status.

Materials and Methods

Participants

Ninety-two patients with clinically defined MS according to McDonald criteria (Polman et al. 2005) were recruited for this study from the Hospital General de Castellón. The main clinical phenotypes were relapsing-remitting ($n = 68$) MS and secondary-progressive ($n = 24$) MS. At the time of the study, all patients had been relapse- and steroid-free for at least 3 months. All patients underwent a neurological assessment that included the Expanded Disability Status Scale (Kurtzke 1983), and MRI scans were conducted within 2 weeks. Twenty-three healthy individuals with no previous history of neurological dysfunction were also recruited and served as a group of healthy controls (HCs).

Neuropsychological Assessment

All participants were neuropsychologically tested using the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N) validated for the Spanish population (Sepulcre et al. 2006). The BRB-N includes: the Selective Reminding Test (SRT), the 10/36 Spatial Recall Test (SPART), the Symbol Digit Modalities Test (SDMT), the Paced Auditory Serial Addition Test-3 seconds (PASAT-3), and the Word List Generation Test (WLGT). From these tests, a Z score for each cognitive domain was calculated following the criteria developed by Sepulcre et al. (2006)

- Verbal memory Z score (Z_v) = (SRT Long-Term Storage + SRT Consistent Long-Term Retrieval + SRT Delayed Recall) / 3
- Visual memory Z score (Z_{vi}) = (10/36 SPART Long-Term Storage + 10/36 SPART Delayed Recall) / 2

- Attention and executive functions Z score (Z_a) = $(SDMT + PASAT - 3) / 2$
- Fluency Z score (Z_f) = WLGT
- Global Z score (Z_g) = $(Z_v + Z_{vi} + Z_a + Z_f) / 4$

Following the cut-off score described by Calabrese et al. (2009), MS participants who scored 2 standard deviations below mean normative values on at least one test of the BRB-N were considered cognitively impaired (CI; $n = 46$) and the rest were considered cognitively preserved (CP; $n = 46$).

Approval was received from the local ethical standards committee on human experimentation, and written informed consent was obtained from all study participants.

MRI Examination

Using a 1.5 T scanner (Siemens Avanto, Erlangen, Germany), sagittal 3D MPRAGE T1 sequences (TR = 11 ms, FOV = 256 mm x 234 mm, matrix = 256 x 224, voxel size = 1 x 1 x 1 mm, TE = 4.9 ms, number of echoes = 1, flip angle = 15°) were acquired from all participants.

Lesion Analysis

For each MS patient, hypointense WM lesions were assessed during a single observation and were semiautomatically segmented using Jim software (Version 5.0, Xinapse Systems, Northants, UK; <http://www.xinapse.com>). We used the T1 images described by Ceccarelli et al. (2012) to be more precise in detecting lesions because 176 images were acquired in our case. Afterward, the lesion analysis followed the subsequent steps:

1. The T1 LV for each patient was obtained using an automated voxel-counting program.
2. Individual lesion images were binarized using the ImCalc function in SPM8 and then were linearly normalized and registered to Montreal Neurological Institute (MNI) standard stereotaxic space using the Deformation toolbox in SPM8. For each group of patients, lesion probability maps were obtained by averaging normalized lesion images with the `spm_mean_ui` script in SPM8. For each map, voxel intensity represents the probability of lesion occurrence (ranging from 0 to 1). These lesion probability maps used absolute threshold masking set at 1, showing voxels in which a lesion was present in at least 10% of the patient

- subgroup (Roosendaal et al. 2009).
3. Voxelwise statistical analysis of lesion images was done using the general linear model with Randomise, an FSL program that performs nonparametric permutation testing (5000 permutations -Nichols & Holmes 2002-). We ran a voxelwise unpaired t test to compare probability of lesion occurrence in CI and CP patients. To correlate probability of lesion occurrence with Z scores for different cognitive domains, we conducted a voxelwise regression analysis. Clusters were considered significant at $p < .05$, fully corrected for multiple comparisons across space, and age and gender were included as nuisance covariates.
 4. The anatomical location of significant clusters was determined using Johns Hopkins University diffusion tensor imaging-based atlases of WM anatomy provided in FSL.

VBM Analysis

Optimized VBM was applied to the 3D T1 images using Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponential Lie Algebra (DARTEL) included in SPM8. We used the Lesion Filling tool (Gelineau-Morel et al. 2012) of the FMRIB Software Library (FSL; <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl>; -Gelineau-Morel et al. 2012-). This tool combines the binary lesion masks previously created with the T1 images and generates a new structural image with lesion areas “filled” with intensities of neighboring WM voxels. These new images were used to improve the segmentation step of VBM analysis to obtain more accurate GM and WM volumes. The analysis comprises the following steps:

1. Three-dimensional lesion-filled images were reoriented along the anterior-posterior commissure line.
2. The reoriented images were segmented into GM, WM, and cerebrospinal fluid images in native space and then generated by a rigid transformation. The resolution of the aligned images was specified as $1.5 \times 1.5 \times 1.5 \text{ mm}^3$. Following the methodology of Sanfilipo et al. (2004), we calculated brain parenchymal fraction, GM fraction (GMF), and WM fraction (WMF) for every participant using the GM, WM, and cerebrospinal fluid images obtained in this step.
3. Study-specific GM and WM templates were then created using the aligned

images from all patients and controls. First, we generated an original template by computing the average of all aligned data, followed by the first iteration of the registration for each participant in turn. Thus, a new template was created and the second iteration began. After six iterations, the template was created, which was the average of the DARTEL-registered data. During iterations, all images were warped to the template yielding a series of flow fields and parameterized deformations, which were employed in the modulation step.

4. Since this was processed in native space, it was necessary to transform all the normalized, modulated data into MNI space.
5. After the space transformation, all these images were smoothed using an isotropic Gaussian kernel of 8-mm full width at half maximum.

The distribution of brain atrophy and differences among groups were assessed using an ANCOVA for GM and WM, including age and gender as nuisance covariates. We also performed a regression analysis to observe the relationship between cognitive Z scores, and GM and WM volume reductions. For all analyses, we used a family-wise error correction for multiple comparisons at the cluster level ($p < .0001$) determined by Monte Carlo simulations conducted with the AlphaSim utility in combination with a cluster-size criterion of 71 voxels for GM and 111 voxels for WM in the ANCOVA, and 69 voxels for GM and 97 voxels for WM in the regression analysis.

Statistical Analysis of Other Variables

Statistical analysis was performed using SPSS (Version 17.0, Chicago, IL). Demographic, clinical, and cognitive variables were compared among groups using one-way ANOVAs, and Fisher's LSD post hoc test (Hayter 1986) was used to analyze differences among the three groups (CI patients, CP patients, and HCs). With regard to other variables for which only patient data were available, we used the t test for independent samples. The correlations coefficient was calculated in order to study relationships among variables of interest.

Results

Demographic, Clinical, Radiological, and Neuropsychological Results

Demographic, clinical, radiological, and neuropsychological data are summarized in Table 1. CI patients showed differences in performance on all

neuropsychological tests compared with the CP patient group. More specifically, 52.17% of the patients had low Za scores, 43.47% had low Zv scores, 34.78% had low Zvi scores, and 32.60% had low Zf scores. CI and CP patients had less years of education than HCs, while CI were also older than HCs and than CP patients. Finally, CI group also showed significantly higher disease scores compared with CP patients. Concerning MRI variables, all patients (CI and CP) had lower brain parenchymal fraction and GMF compared with HCs. With regard to WM lesions, CI patients had more T1 LV compared with CP patients.

A linear-regression-based analysis confirmed that cognitive performance (Zg) in all MS patients could be predicted by GMF, years of education, and WMF (overall $R^2 = .390$). Examination of the standardized regression coefficients revealed that GMF (beta = .520, $p < .001$) and years of education (beta = .339, $p < .001$) were the most relevant variables for estimating the cognitive status of MS patients, following WMF (beta = .237, $p < .05$).

Distribution of Lesions According to Cognitive Impairment

As seen in Figure 1, the anatomical distribution of T1 lesions in the brain in both groups of patients was similar. Although CI patients had higher T1 LV than CP patients (see Table 1), we did not observe differences in lesion localization between groups using a voxelwise analysis. On the other hand, peak lesion frequency was higher in CI patients (43%) and was located in the right anterior corona radiata (MNI: 19, 29, 7), whereas lesion frequency was lower in CP patients (24%) and was located in the left genu of the corpus callosum (MNI: -17, 30, 0).

Regarding the relationship between lesions and cognition, we observed negative correlations between lesions, and Zg and Za scores but only when considering all MS patients as a whole; we didn't find significant statistical correlations when a subgroup of patients was separately studied. Specifically, Zg and Za correlated with lesions located in different parts of the corona radiata and corpus callosum, thalamic radiation, and bilateral superior longitudinal fasciculus (see Figure 2 and Table 2).

Distribution of Atrophy According to Cognitive Impairment

CI patients showed a widespread loss of tissue in terms of GM atrophy compared with HCs. GM atrophy was observed in all cerebral lobes, the cingulate

gyrus, bilateral thalamus, left putamen, and left cerebellum. This group of patients also showed WM loss in extended bilateral areas of all cerebral lobes, subcortical areas such as the bilateral corpus callosum, thalamus, and hippocampus, the bilateral basal ganglia (putamen), and the brainstem. For further and more specific information, see Figure 1 and Tables S1 and S2 provided as supplementary material.

On the other hand, CP patients demonstrated less GM loss of tissue compared with HCs. In this case, GM atrophy was focused in the bilateral thalamus and right temporal lobe areas that included the superior, middle, and inferior temporal gyri. WM atrophy was restricted to the bilateral thalamus and right parietal lobe (sub-gyral). See Figure 1 and Tables S1 and S2 provided as supplementary material.

As expected, when both group of patients were compared, CI patients showed more GM and WM tissue loss in different areas compared with CP patients, whereas the reverse contrast did not show significant differences. Areas where CI patients had more GM atrophy were the bilateral occipital lobe (cuneus), bilateral parietal lobe (precuneus), bilateral posterior cingulate, and bilateral cerebellum. Finally, WM areas where CI patients had more atrophy compared with CP patients were the bilateral corpus callosum and cingulate gyrus, bilateral thalamus, bilateral temporal lobe including the hippocampus, and left occipital lobe (sub-gyral). See Figure 1 and Tables S1 and S2 provided as supplementary material.

We also observed significant correlations between cognitive Z scores and regional brain atrophy in CI patients (see Figure 3). Specifically, we found a significant positive correlation between GM volume in several brain areas, and Zg and Za scores (see Table 3). Moreover, we found a significant positive correlation between WM volume, and Zg and Za scores focused in the thalamus (for further and more specific information, see Table 3). We did not find any significant correlations between brain atrophy and Z scores in CP patients.

Discussion

In the present study, we used a voxelwise approach to observe the volumetric and regional distribution of GM atrophy, WM atrophy, and T1 lesions in relation to cognitive impairment in MS patients. As expected, different patterns of GM and WM

atrophy were observed in CI and CP patients, whereas the role of lesions in cognition seems to be less clear.

As observed in previous studies (Amato et al. 2007; Calabrese et al. 2009; Morgen et al. 2006; Riccitelli et al. 2011), CI patients exhibited a higher degree of GM and WM atrophy than MS patients who did not show cognitive deficits (CP patients) and healthy individuals (HCs). Compared with HCs, GM loss in CI patients not only affected different parts of the frontal, parietal, temporal, and occipital cortices (including the cingulate gyrus), but also affected deeper structures (such as the thalamus and basal ganglia) that had been previously described as particularly prone to GM atrophy in MS patients and that seem to play an important role in different cognitive processes (Batista et al. 2012; Benedict et al. 2013; Houtchens et al. 2007). Additionally, compared with HCs, CI patients exhibited WM loss that had a similar anatomical distribution to that of GM atrophy, affecting large portions of the frontal, parietal, temporal, and occipital cortices as well as the thalamus and across the corpus callosum. Of note is that previous reports (Benedict et al. 2013; Llufriu et al. 2012) have linked WM alterations in the thalamus and corpus callosum with cognitive deficits in MS patients, which is similar to what has been described in past reports on GM atrophy. On the other hand, when compared with CP patients, CI patients displayed reduced GM volume in several posterior brain areas (including the cerebellum). However, differences between both subgroups of MS patients were more evident regarding WM volume, especially affecting brain structures that have been reported as particularly prone to MS neuropathology such as the thalamus and corpus callosum (Benedict et al. 2013; Llufriu et al. 2012).

Although the interplay between GM atrophy, WM atrophy, and focal lesions in MS is not well understood (and its clarification was beyond the scope of this study), we obtained qualitative evidence suggesting a high degree of anatomical overlap among these neuropathological parameters of MS. This overlap was particularly noteworthy at the anterior and posterior periventricular areas of the brain in CI patients. At this point it should be noted that, conversely to previous studies, we studied WM lesion distribution by analyzing T1 (instead of T2) images and then incorporating a recent methodological approach described by Ceccarelli et al. (2012) in which the accuracy of lesion localization is enhanced as it is obtained from a larger number of analyzed images. Subsequently, we also improved the segmentation step of the VBM procedure using the

automated lesion-filling technique that minimizes the effect of focal lesions on tissue segmentation. As far as we know, this is the first study that has observed the relationship between WM atrophy and cognitive deficits in MS patients. In this regard, and taking into account the results of our global regression analysis, we may conclude that the best predictors of cognition are GM atrophy (GMF) followed by years of education and WM atrophy (WMF). The emergence of years of education as a relevant determinant of cognitive performance in MS patients was initially unexpected, but we feel that this might be related to the concept of cognitive reserve (Amato et al. 2013).

The implication of GM atrophy, WM atrophy, and focal lesions in cognitive performance in MS patients was further explored by means of correlational analyses. In this way, we found that only in CI patients were GM and WM atrophy inversely correlated with Zg and Za (calculated from accuracy in the SDMT and PASAT-3). This finding is especially interesting because these two tasks have been described as the most sensitive (among tests of the BRB-N) to detection of cognitive deficits in MS patients (Portaccio et al. 2009), also revealing a robust correlation with brain damage in previous studies (Benedict et al. 2006; Sastre-Garriga et al. 2009). On the contrary, LV was not related to cognitive performance in CI patients and only yielded significant correlations with Zg and Za when all (CI and CP) patients were analyzed as a whole. These results allowed us to conclude that, as described in previous studies (Calabrese et al. 2009; Kincses et al. 2011; Rovaris et al. 2006), WM lesions do not seem to be a major determinant of cognitive performance in MS patients.

Digging further into the relationship between GM and WM atrophy and cognitive performance in CI patients, we observed that Zg was correlated with GM loss in a large number of brain areas including the cingulate gyrus and deep structures such as the basal ganglia. The correlation between Zg and such a spread-out pattern of GM atrophy is not surprising because the Zg is a composite score of performance on all BRB-N tests, hence reflecting the status of a large number of cognitive functions and brain structures. Indeed, a more specific relationship was observed between GM loss and the Za of CI patients, which was restricted to bilateral areas of the cingulate gyrus, medial frontal cortex, and postcentral gyrus of the parietal cortex. This finding is in agreement with that of previous studies implementing functional MRI (fMRI), revealing that proper execution of the SDMT and PASAT (that is, the two tasks used to calculate Za) requires the integrity of a frontoparietal network that contains the cingulate gyrus,

medial frontal cortex, and postcentral gyrus of the parietal cortex (Forn et al. 2012, 2013). At the functional level, this frontoparietal network is involved in working memory and attention functions, and it is generally agreed upon that proper execution of the SDMT and PASAT also requires a certain degree of information processing speed. Reduced information processing speed might be the primary cognitive deficit in MS patients (Chiaravalloti & DeLuca 2008) and might affect a large number of cognitive functions by promoting functional disconnection among distant cortical areas as well as among the cortex and deep structures, especially the thalamus (Benedict et al. 2013). Interestingly, our results also revealed a significant correlation between thalamic WM volume, and Zg and Za of CI patients. More specifically, we found direct correlations between cognitive scores and lesion volumes of the posterior thalamic radiation and WM tract volume in the corona radiata and corpus callosum, two WM structures previously related to cognitive deficits in MS patients (Llufriu et al. 2012; Rossi et al. 2012).

In summary, we confirmed the influence of GM and probably WM atrophy on the cognitive status of MS patients. The pattern of WM damage that included lesions and atrophy seems to predominantly affect periventricular areas and, as a consequence, may alter the connections of different cortical regions and corticobasal structures. Furthermore, although GM loss was more widely distributed, GM loss in the frontoparietal network may be especially important for explaining the most common cognitive deficits in MS patients. It seems reasonable to conclude that atrophy in target brain areas contributes to the reduction of information processing speed, one of the most characteristic cognitive deficits in MS patients that may be conceptualized as the result of a disconnection syndrome.

References

- Amato, M. P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Battaglini, M., Bartolozzi, M. L., et al. (2007). Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 64(8), 1157–1161.
- Amato, M. P., Razzolini, L., Goretti, B., Stromillo, M. L., Rossi, F., Giorgio, A., et al. (2013). Cognitive reserve and cortical atrophy in multiple sclerosis: A longitudinal study. *Neurology*, 80(19), 1728–1733.

Batista, S., Zivadinov, R., Hoogs, M., Bergsland, N., Heininen-Brown, M., Dwyer, M. G., et al. (2012). Basal ganglia, thalamus and neocortical atrophy predicting slowed cognitive processing in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 259(1), 139–146.

Bendfeldt, K., Blumhagen, J. O., Egger, H., Loetscher, P., Denier, N., Kuster, P., et al. (2010). Spatiotemporal distribution pattern of white matter lesion volumes and their association with regional grey matter volume reductions in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 31(10), 1542–1555.

Benedict, R. H. B., Bruce, J. M., Dwyer, M. G., Abdelrahman, N., Hussein, S., Weinstock-Guttman, B., et al. (2006). Neocortical atrophy, third ventricular width, and cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 63(9), 1301–1306.

Benedict, R. H., Hulst, H. E., Bergsland, N., Schoonheim, M. M., Dwyer, M. G., Weinstock-Guttman, B., et al. (2013). Clinical significance of atrophy and white matter mean diffusivity within the thalamus of multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis* (ahead of print). doi:10.1177/1352458513478675

Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., et al. (2009). Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 66(9), 1144–1450.

Ceccarelli, A., Bakshi, R., & Neema, M. (2012). MRI in multiple sclerosis: a review of the current literature. *Current opinion in neurology*, 25(4), 402–409.

Chiaravalloti, N. D., & DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet neurology*, 7(12), 1139–1151.

Filippi, M., Rocca, M., Benedict, R., DeLuca, J., Geurts, J., Rombouts, S., et al. (2010). The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 75(23), 2121–2128.

Filippi, M., Rocca, M. A., Barkhof, F., Brück, W., Chen, J. T., Comi, G., et al. (2012). Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet neurology*, 11(4), 349–360.

- Forn, C., Rocca, M. A., Boscá, I., Casanova, B., Sanjuan, A., & Filippi, M. (2013). Analysis of “task-positive” and “task-negative” functional networks during the performance of the Symbol Digit Modalities Test in patients at presentation with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Experimental brain research*, 225(3), 399–407.
- Forn, C., Rocca, M. A., Valsasina, P., Boscá, I., Casanova, B., Sanjuan, A., et al. (2012). Functional magnetic resonance imaging correlates of cognitive performance in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis at presentation: an activation and connectivity study. *Multiple sclerosis*, 18(2), 153–163.
- Gelineau-Morel, R., Tomassini, V., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Matthews, P. M., & Palace, J. (2012). The effect of hypointense white matter lesions on automated gray matter segmentation in multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 33(12), 2802–2814.
- Grassiot, B., Desgranges, B., Eustache, F., & Defer, G. (2009). Quantification and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis: a review. *Journal of neurology*, 256(9), 1397–1412.
- Hayter, A. J. (1986). The Maximum Familywise Error Rate of Fisher’s Least Significant Difference Test. *Journal of the American Statistical Association*, 81(396), 1000.
- Houtchens, M. K., Benedict, R. H. B., Killiany, R., Sharma, J., Jaisani, Z., Singh, B., et al. (2007). Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology*, 69(12), 1213–1223.
- Kincses, Z. T., Ropele, S., Jenkinson, M., Khalil, M., Petrovic, K., Loitfelder, M., et al. (2011). Lesion probability mapping to explain clinical deficits and cognitive performance in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 17(6), 681–9.
- Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444–1452.

Kutzelnigg, A., Lucchinetti, C. F., Stadelmann, C., Brück, W., Rauschka, H., Bergmann, M., et al. (2005). Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 128(Pt 11), 2705–2712.

Llufriu, S., Blanco, Y., Martinez-Heras, E., Casanova-Molla, J., Gabilondo, I., Sepulveda, M., et al. (2012). Influence of corpus callosum damage on cognition and physical disability in multiple sclerosis: a multimodal study. *PloS one*, 7(5), e37167. doi:10.1371/journal.pone.0037167

Mechelli, A., Price, C., Friston, K., & Ashburner, J. (2005). Voxel-Based Morphometry of the Human Brain: Methods and Applications. *Current Medical Imaging Reviews*, 1(2), 105–113.

Morgen, K., Sammer, G., Courtney, S. M., Wolters, T., Melchior, H., Blecker, C. R., et al. (2006). Evidence for a direct association between cortical atrophy and cognitive impairment in relapsing-remitting MS. *NeuroImage*, 30(3), 891–898.

Nichols, T. E., & Holmes, A. P. (2002). Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Human brain mapping*, 15(1), 1–25.

Pirko, I., Lucchinetti, C. F., Sriram, S., & Bakshi, R. (2007). Gray matter involvement in multiple sclerosis. *Neurology*, 68(9), 634–642.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Edan, G., Filippi, M., Hartung, H.-P., Kappos, L., et al. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Annals of neurology*, 58(6), 840–846.

Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Siracusa, G., Sorbi, S., & Amato, M. P. (2009). A short version of Rao’s Brief Repeatable Battery as a screening tool for cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist*, 23(2), 268–275.

Riccitelli, G., Rocca, M. a, Pagani, E., Rodegher, M. E., Rossi, P., Falini, A., et al. (2011). Cognitive impairment in multiple sclerosis is associated to different patterns of gray matter atrophy according to clinical phenotype. *Human brain mapping*, 32(10), 1535–1543.

Riccitelli, G., Rocca, M. A., Pagani, E., Martinelli, V., Radaelli, M., Falini, A., et al. (2012). Mapping regional grey and white matter atrophy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 18(7), 1027–1037.

Roosendaal, S. D., Moraal, B., Pouwels, P. J. W., Vrenken, H., Castelijns, J. A., Barkhof, F., & Geurts, J. (2009). Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Multiple sclerosis*, 15(6), 708–714.

Rossi, F., Giorgio, A., Battaglini, M., Stromillo, M. L., Portaccio, E., Goretti, B., et al. (2012). Relevance of brain lesion location to cognition in relapsing multiple sclerosis. *PloS one*, 7(11), e44826. doi:10.1371/journal.pone.0044826

Rovaris, M., Comi, G., & Filippi, M. (2006). MRI markers of destructive pathology in multiple sclerosis-related cognitive dysfunction. *Journal of the neurological sciences*, 245(1-2), 111–116.

Sanfilipo, M. P., Benedict, R. H. B., Zivadinov, R., & Bakshi, R. (2004). Correction for intracranial volume in analysis of whole brain atrophy in multiple sclerosis: the proportion vs. residual method. *NeuroImage*, 22(4), 1732–1743.

Sastre-Garriga, J., Arévalo, M. J., Renom, M., Alonso, J., González, I., Galán, I., et al. (2009). Brain volumetry counterparts of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, 282(1-2), 120–124.

Sepulcre, J., Vanotti, S., Hernández, R., Sandoval, G., Cáceres, F., Garcea, O., & Villoslada, P. (2006). Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Multiple sclerosis*, 12(2), 187–195.

Table 1: Main demographic, clinical, radiological and neuropsychological characteristics from all participants.

	HC n=23	CP patients n= 46	CI patients n=46	HC vs CP	HC vs CI	CP vs CI
Age mean (SD) [range]	34.00 (9.46) [22-54]	37.85 (9.17) [21-58]	43.67 (9.36) [20-58]	.274	.000	.013
Years of education mean (SD)	14.43 (2.71)	11.98 (2.74)	9.96 (2.86)	.003	.000	.003
Years of evolution disease mean (SD) [range]	-	7.20 (7.32) [1-28]	10.20 (7.64) [1-28]	-	-	.058
Median EDSS [range]	-	2 [0-6.5]	3 [1-7]	-	-	.000
T1 LV mean (SD)	-	4.67 (6.46)	9.62 (15.36)	-	-	.049
BPF mean (SD)	0.86 (0.14)	0.83 (0.28)	0.81 (0.35)	.003	.000	.000
GMF mean (SD)	0.41 (0.25)	0.39 (0.37)	0.35 (0.53)	.098	.000	.000
WMF mean (SD)	0.44 (0.19)	0.44 (0.25)	0.45 (0.32)	.963	.210	.046
SRT long term storage mean (SD)	52.43 (12.07)	48.98 (9.19)	31.11 (13.45)	.510	.000	.000
SRT consistence long term retrieval mean (SD)	43.61 (11.74)	39,11 (10,83)	21,48 (12,53)	.326	.000	.000
SRT delayed recall mean (SD)	9.78 (1.65)	9.02 (1.89)	5.85 (2.84)	.429	.000	.000
10/36 SPART long term storage mean (SD)	23.09 (4.42)	22.07 (4.33)	17.30 (5.40)	.708	.000	.000
10/36 SPART delayed recall mean (SD)	8.22 (2.04)	7.70 (1.84)	5.72 (2.84)	.587	.000	.000
SDMT mean (SD)	59.13 (11.02)	56 (8.36)	35.33 (9.32)	.424	.000	.000
WLGT mean (SD)	23.35 (4.05)	23.65 (3.80)	16.07 (5.19)	.965	.000	.000
PASAT 3 seconds mean (SD)	48.35 (9.56)	46.70 (8.20)	15.07 (14.23)	.899	.000	.000

List of abbreviations: T1 LV= lesion volume; BPF= brain parenchymal fraction; SRT=Selective reminding test; SPART=Spatial

Recall test; SDMT=Symbol digit modalities test; WLGT=word list generation test; PASAT=Paced Auditory Serial Addition Test

Table 2: Areas showing significant correlations between lesion frequency and Z scores in whole patient group ($p < 0.05$ corrected) after correcting for age and gender.

Anatomical localization	Zg					Za				
	MNI coordinates			Cluster size	p-value	MNI coordinates			Cluster size	p-value
R Superior Longitudinal Fasciculus	36	-57	14	169	0.043	32	-20	33	9389	0.037
R Anterior Corona Radiata	25	36	0	14437	0.013	24	36	0		0.023
R Posterior Corona Radiata	26	-31	25		0.031	21	-28	32		0.009
R Superior Corona Radiata	16	15	36		0.022	21	-2	28		0.009
R Posterior Talamic Radiation	30	-39	16		0.037	30	-57	13		0.022
R Genu of Corpus Callosum	12	21	24		0.033	12	21	24		0.019
R Splenium of Corpus Callosum	-	-	-		-	18	-48	24		0.017
R Body of Corpus Callosum	-	-	-	-	2	10	22	0.013		
L Superior Longitudinal Fasciculus	-33	9	21	1037	0.040	-20	41	6	735	0.040
L Anterior Corona Radiata	-22	28	-2	598	0.038	-22	30	0		0.030
L Posterior Corona Radiata	-	-	-	-	-	-31	-50	21		0.038
L Superior Corona Radiata	-16	9	40	149	0.048	-12	2	38		0.034
L Posterior Talamic Radiation	-	-	-	-	-	-32	-43	17	1152	0.037
L Genu of Corpus Callosum	-	-	-	-	-	-16	30	7		0.025
L Splenium of Corpus Callosum	-	-	-	-	-	-25	-48	21		0.019
L Body of Corpus Callosum	-	-	-	-	-	-2	7	22		0.016

Abbreviations: Zg= Z global; Za= Z attentional/executive; L= left; R= right; MNI= Montreal Neurological Institute.

Table 3: Areas showing significant correlations between GM/WM volume and Z scores in CI patients. Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.0001$), covariate for age and gender.

Grey Matter anatomical localization	Zg					Za							
	MNI coordinates			Cluster size	t value	r value	MNI coordinates			Cluster size	t value	r value	
L Occipital Lobe	-6	-62	0	841	6.19	0.58	-	-	-	-	-	-	
L Posterior Cingulate	-5	-64	7		4.78		-	-	-	-	-	-	-
L Anterior Cingulate Gyrus	-5	9	41	1207	5.53	0.56	-9	8	39	95	4.64	0.55	
R Anterior Cingulate Gyrus	5	-24	44		4.61		11	24	33	87	4.48	0.54	
L Middle Frontal Gyrus	-35	33	41	365	5.45	0.57	-	-	-	-	-	-	
R Insula	42	-1	9	1025	5.45	0.57	-	-	-	-	-	-	
R Precentral Gyrus	46	-2	9		4.75		-	-	-	-	-	-	-
R Putamen	33	-4	12		4.31		-	-	-	-	-	-	-
R Parietal Lobe, Postcentral gyrus	53	-9	17		4.86		51	-7	17	136	4.91	0.55	
R Superior Temporal Gyrus	53	12	-23	547	5.13	0.56	-	-	-	-	-	-	
R Middle Temporal Gyrus	52	12	-28		4.46		-	-	-	-	-	-	-
R Anterior Cingulate	11	38	21	585	5.05	0.56	6	33	16	285	4.74	0.55	
L Anterior Cingulate	-6	36	29		4.43		-	-	-	-	-	-	-
L Superior Temporal Gyrus	-41	20	-32	570	5.03	0.56	-44	17	-35	280	4.60	0.55	
L Middle Temporal Gyrus	-37	10	-43		4.45		-	-	-	-	-	-	-
L Precuneus	-6	-50	51	92	4.99	0.56	-	-	-	-	-	-	
R Precuneus	18	-41	1	109	4.87	0.55	-	-	-	-	-	-	
R Medial Frontal Gyrus	8	39	-18	235	4.47	0.55	11	38	-17	739	5.39	0.56	
R Putamen	21	6	-12	201	4.67	0.54	-	-	-	-	-	-	
R Caudate	10	10	-10		4.38		-	-	-	-	-	-	-
L Inferior Frontal Gyrus	-47	6	30	69	4.52	0.54	-	-	-	-	-	-	
R Uncus	31	-9	-39	75	4.14	0.55	-	-	-	-	-	-	
White matter anatomical localization	Zg					Za							
	MNI coordinates			Cluster size	t value	r value	MNI coordinates			Cluster size	t value	r value	
L Thalamus	-21	-33	3	132	4.21	0.54	-	-	-	-	-	-	
	-6	-11	11	407	4.86	0.55	-	-	-	-	-	-	
R Thalamus					4.75		12	-15	6	104	4.24	0.53	

Abbreviations: CI= cognitive impaired; Zg= Z global; Za= Z attentional/executive; L= left; R= right; MNI= Montreal Neurological Institute.

Supplementary Table 1: Areas showing significant differences in GM volume between groups according cognitive score. Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.0001$) covariate for age and gender.

Anatomical localization	CP patients vs. HC					CI patients vs. HC					CI patients vs. CP patients				
	MNI coordinates			Cluster size	t value	MNI coordinates			Cluster size	t value	MNI coordinates			Cluster size	t value
	x	y	z			x	y	z			x	y	z		
L Parietal Lobe / Precuneus	-	-	-	-	-	-8	-71	21	6710	6.50	-14	-62	23	508	4.52
L Occipital Lobe / Cuneus	-	-	-	-	-	-11	-72	15		5.53	-12	-62	21		4.48
L Posterior Cingulate	-	-	-	-	-	-11	-53	5		5.23	-8	-71	11		3.91
R Parietal Lobe / Precuneus	-	-	-	-	-	11	-66	28		5.99	11	-65	24	270	4.39
R Occipital Lobe / Cuneus	-	-	-	-	-	6	-63	20		5.69	12	-62	21		4.08
R Posterior Cingulate	-	-	-	-	-	12	-57	12		6.69	10	-60	14		3.92
L Putamen	-	-	-	-	-	-27	11	5	286	4.32	-	-	-	-	-
L Thalamus	-8	-6	8	118	5.11	-6	-8	8	2394	5.91	-	-	-	-	-
R Thalamus	9	-11	11	182	4.18	6	-12	9		5.91	-	-	-	-	-
L Parahippocampal Gyrus	-	-	-	-	-	-2	-34	-3		4.91	-	-	-	-	-
R Parahippocampal Gyrus	-	-	-	-	-	20	-34	-3		4.82	-	-	-	-	-
R Inferior Temporal Gyrus	47	-54	-15	160	4.87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R Middle Temporal Gyrus	62	-29	-3	178	4.37	63	-32	-3	1698	5.71	-	-	-	-	-
R Superior Temporal Gyrus	62	-25	0		4.18	58	-47	9		4.90	-	-	-	-	-
L Middle Temporal Gyrus	-	-	-	-	-	-58	-5	-14	150	4.34	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-55	-39	-2	1465	5.52	-	-	-	-	-
L Superior Temporal Gyrus	-	-	-	-	-	-60	-23	-5		4.63	-	-	-	-	-
L Occipital Lobe / Lingual Gyrus	-	-	-	-	-	-18	-72	-9	523	5.31	-	-	-	-	-
R Inferior Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	47	21	3	134	4.27	-	-	-	-	-
R Medial Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	14	54	14	243	4.94	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	3	55	-9	2555	5.06	-	-	-	-	-
L Medial Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	-3	55	-9		4.59	-	-	-	-	-
R Frontal Lobe / Orbital Gyrus	-	-	-	-	-	5	47	-20		4.25	-	-	-	-	-
L Frontal Lobe / Orbital Gyrus	-	-	-	-	-	-2	45	-21		4.11	-	-	-	-	-
R Superior Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	20	48	38	104	4.38	-	-	-	-	-
L Superior Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	-23	44	32	673	4.90	-	-	-	-	-
R Frontal Lobe / Precentral Gyrus	-	-	-	-	-	47	-18	41	216	4.52	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	55	-12	14	144	4.41	-	-	-	-	-
R Paracentral Lobule	-	-	-	-	-	2	-12	47	848	4.88	-	-	-	-	-
L Paracentral Lobule	-	-	-	-	-	-3	-14	48		4.51	-	-	-	-	-
R Middle Cingulate Gyrus	-	-	-	-	-	2	-11	47		4.76	-	-	-	-	-
L Middle Cingulate Gyrus	-	-	-	-	-	-2	-9	48		4.62	-	-	-	-	-
R Cerebellum	-	-	-	-	-	45	-65	-42	444	4.74	47	-68	-42	1958	5.19
	-	-	-	-	-	24	-42	-20	419	4.48	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	44	-53	-27	242	4.44	12	-41	-18	2142	4.83
L Cerebellum	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-11	-42	-18		4.08
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-9	-63	-48	473	4.64

Abbreviations: HC, healthy controls; CI, cognitive impaired; CP, cognitive preserved; L, left; R, right; MNI, Montreal Neurological Institute.

Supplementary Table 2: Areas showing significant differences in WM volume between groups according cognitive score. Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.0001$) covariate for age and gender.

Anatomical localization	CP patients vs. HC					CI patients vs. HC					CI patients vs. CP patients				
	MNI coordinates			Cluster size	t value	MNI coordinates			Cluster size	t value	MNI coordinates			Cluster size	t value
	x	y	z			x	y	z			x	y	z		
R Corpus Callosum	-	-	-	-	-	9	-34	18	43968	4.80	5	9	21	975	4.42
L Corpus Callosum	-	-	-	-	-	-6	-34	15		5.11	-3	6	23		4.41
R Anterior Cingulate	-	-	-	-	-	17	-3	36		4.48	14	2	36		4.15
L Anterior Cingulate	-	-	-	-	-	-12	5	36		4.57	-5	2	29	3.97	
R Temporal Lobe	-	-	-	-	-	35	-62	6		5.77	39	-33	-3	789	4.41
R Hippocampus	-	-	-	-	-	40	-15	-15		4.20	38	-30	-8		4.14
R Thalamus	9	-11	18	1188	4.98	9	-11	18		7.81	24	-29	6	162	4.30
	-	-	-		-	-	-	-		-	-	9	-9		18
L Thalamus	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-3	-11	9	4.14
	-8	-12	17		5.56	-5	-12	11		7.73	-21	-32	6	881	4.22
L Temporal Lobe	-	-	-	-	-	-32	-66	8		6.22	-38	-28	0		4.70
L Hippocampus	-	-	-	-	-	-36	-13	-13		4.18	-36	-30	-8		4.07
R Parietal Lobe	35	-60	39	444	5.51	27	-58	29		5.39	-	-	-	-	-
L Parietal Lobe	-	-	-	-	-	-27	-52	30		5.19	-	-	-	-	-
R Frontal Lobe	-	-	-	-	-	23	33	13		4.63	-	-	-	-	-
L Frontal Lobe	-	-	-	-	-	-23	33	13		4.55	-	-	-	-	-
R Occipital Lobe	-	-	-	-	-	29	-72	5		4.84	-	-	-	-	-
L Occipital Lobe	-	-	-	-	-	-29	-72	5		5.60	-33	-65	3	115	4.43
R Basal Ganglia / Putamen	-	-	-	-	-	31	-18	-6		4.69	-	-	-	-	-
L Basal Ganglia / Putamen	-	-	-	-	-	-31	-18	-6	4.13	-	-	-	-	-	
R Brainstem	-	-	-	-	-	11	-38	-41	529	4.31	-	-	-	-	-

Abbreviations: HC, healthy controls; CI, cognitive impaired; CP, cognitive preserved; L, left; R, right; MNI, Montreal Neurological Institute.

Figure.1 Overlay map of gray matter (GM; t values in yellow) and white matter (WM; t values in blue) atrophy distribution and lesion probability maps (LPMs; t values in red) for all compared groups with respect to cognitive performance. HC = healthy controls; CI = cognitively impaired patients; CP = cognitively preserved patients. Images are in neurological convention and results were analyzed using a family-wise error correction for multiple comparisons at the cluster level ($p < .0001$) determined by Monte Carlo simulations. See the text for further details.

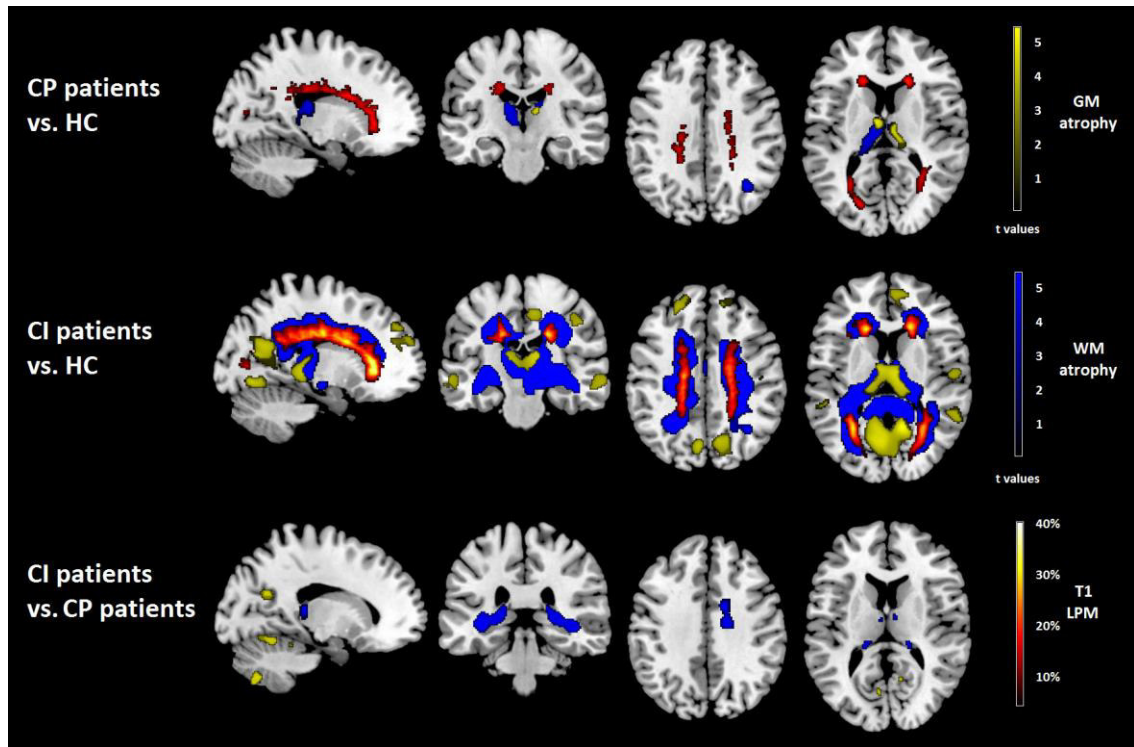


Figure.2 Significant correlations between lesion frequency, and the global Z score (Zg) and attention and executive functions Z score (Za) observed in both groups of patients. Images are in neurological convention and results were corrected for multiple comparisons (Monte Carlo $p < .0001$) after adjusting for age and gender. See the text for further details.

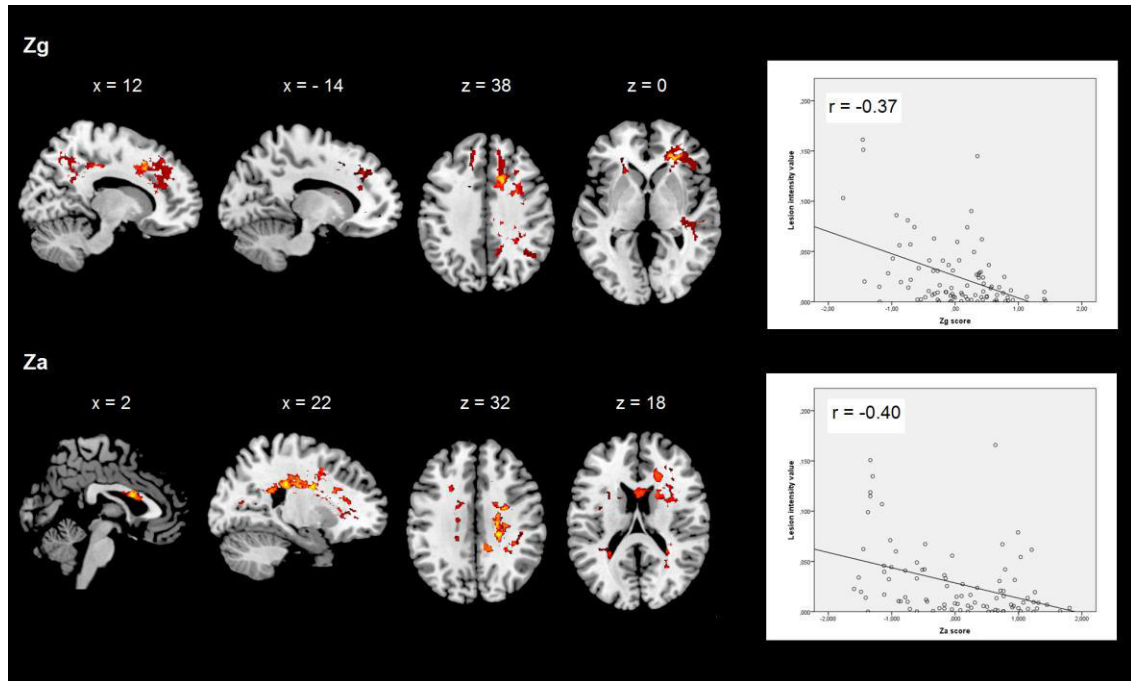
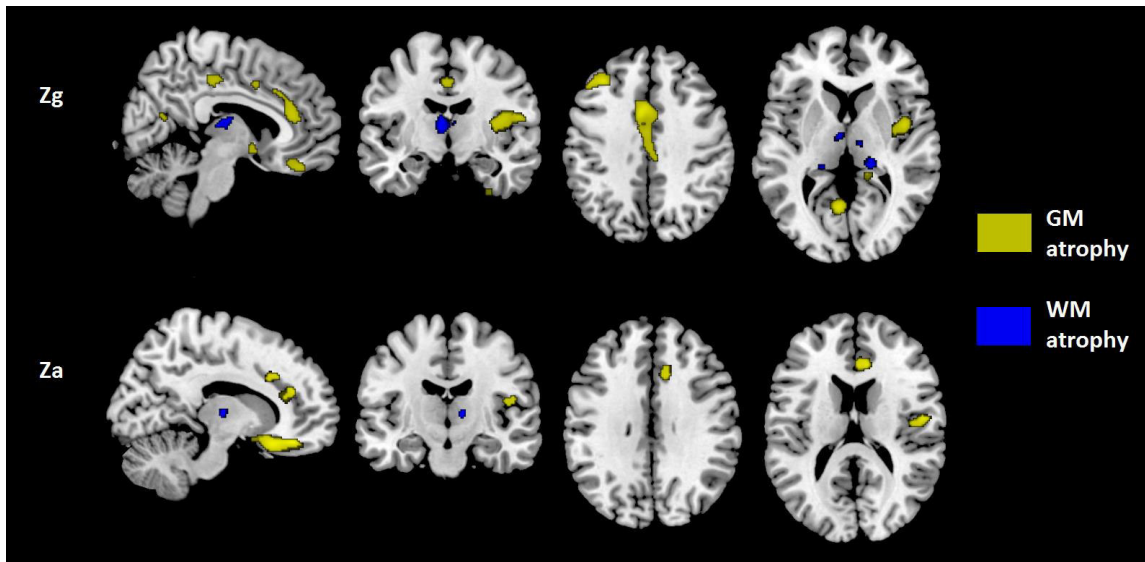


Figure.3 Overlay of gray matter (GM; yellow) and white matter (WM; yellow) atrophy distribution for the correlation analysis between neuropsychological test scores and atrophy in MS patients. CI = cognitively impaired patients; Zg = global Z score; Za = attention and executive functions Z score; Zv = verbal memory Z score. Images are in neurological convention and results were corrected for multiple comparisons (Monte Carlo $p < .0001$) after adjusting for age and gender. See the text for further details.



2.5 Estudio 2

The link between resting-state functional connectivity and
cognition in MS patients

Álvaro J Cruz-Gómez, Noelia Ventura-Campos, Antonio Belenguer, César
Ávila and Cristina Forn.

Publicado en Multiple Sclerosis (en prensa)

The link between resting-state functional connectivity and cognition in MS patients

Multiple Sclerosis Journal
0(0) 1–11
© The Author(s) 2013
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/1352458513495584
msj.sagepub.com



Álvaro J Cruz-Gómez¹, Noelia Ventura-Campos¹,
Antonio Belenguer², Cesar Ávila¹ and Cristina Forn¹

Abstract

Background/Objective: The objective of this paper is to explore differences in resting-state functional connectivity between cognitively impaired and preserved multiple sclerosis (MS) patients.

Methods: Sixty MS patients and 18 controls were assessed with the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N). A global Z score of the BRB-N was obtained and allowed us to classify MS patients as cognitively impaired and cognitively preserved ($n = 30$ per group). Functional connectivity was assessed by independent component analysis of resting-state networks (RSNs) related to cognition: the default mode network, left and right frontoparietal and salience network. Between-group differences were evaluated and a regression analysis was performed to describe relationships among cognitive status, functional connectivity and radiological variables.

Results: Compared to cognitively preserved patients and healthy controls, cognitively impaired patients showed a lesser degree of functional connectivity in all RSNs explored. Cognitively preserved patients presented less connectivity than the control group in the left frontoparietal network. Global Z scores were positively and negatively correlated with brain parenchymal fraction and lesion volume, respectively.

Conclusion: Decreased cognitive performance is accompanied by reduced resting state functional connectivity and directly related to brain damage. These results support the use of connectivity as a powerful tool to monitor and predict cognitive impairment in MS patients.

Keywords

Resting state functional connectivity, cognitive impairment, default network, right frontoparietal network, left frontoparietal network

Date received: 14 March 2013; revised: 3 June 2013; accepted: 5 June 2013

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease that causes demyelination that may alter the dynamic communication within nodes of large-scale brain networks, then contributing to the characteristic deficits observed in MS patients, including neuropsychological impairment.¹

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been extensively used to study the cognitive status of MS patients. Many of these studies^{2–8} have used fMRI in conjunction with attention or working memory tasks because these cognitive functions recruit frontal and parietal areas that seem to work together, requiring correct interconnection between both cortices.³ A major finding of these studies is that, at least in early phases of MS when cognitive impairment is not yet detectable, patients activate additional brain areas to compensate for potential functional

deficits.^{2,6,7} This observation has been supported and expanded on by studies describing enhanced connectivity as a neuroplasticity mechanism that probably compensates for cognitive deficits at early stages of the disease.^{3,5,8,9}

Despite this possible convergence among different studies, interpreting brain activity patterns during cognitive

¹Departament de Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, Spain.

²Servicio de Neurología, Hospital General de Castellón, Spain.

Corresponding author:

Cristina Forn, Departament Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Campus Riu Sec, Fac. Ciències de la Salut, Universitat Jaume I, E-12071 Castelló, Spain.

Email: forn@psb.uji.es

task performance can present difficulties, particularly when trying to identify compensatory adaptations in neurological populations. First, to conclude that there is functional reorganisation secondary to a possible deficit,⁵⁻⁷ patients must execute the task with similar accuracy as the control group. Second, differences in brain activation patterns may arise from using different strategies to solve a task, especially if tasks involve complex cognitive operations, thus complicating interpretation of results.^{5,10} These drawbacks can be avoided by using fMRI while participants remain motionless with their eyes closed, providing a window into neuronal processes. In this situation, RSNs consume the vast majority of the brain's resources and may prove a richer source of disease-related signal changes in patients with a range of different cognitive profiles regardless of task execution.¹¹ The few studies describing differences in RSN synchronisation associated with the cognitive status of MS patients had somewhat conflicting results. Some showed evidence of decreased resting-state functional connectivity (rs-FC) in MS patients compared with healthy participants.^{12,13} Others found that MS patients with normal cognitive performance and less structural damage showed greater rs-FC than patients with cognitive impairment and greater structural damage.^{12,14-16} These authors interpreted enhanced rs-FC as a possible compensatory mechanism that can promote the maintenance of cognitive competence in the initial stages of MS. However, other results seem to contradict this proposal. Faivre et al.¹⁷ evidenced increased rs-FC in MS patients compared with healthy controls (HCs) but found a negative correlation between rs-FC and execution of the Paced Auditory Serial Addition Test assessing cognitive function. Moreover, Hawellek et al.¹ described increased rs-FC as directly related to cognitive impairment, contradicting the hypothesis of adaptive or compensatory effects.

Taking these precedents into account, the present work aims at providing new evidence on the possible use of RSN activity to characterise cognitive deficits of MS patients. For this, we concentrated not only on functional connectivity in the default mode network (DMN) but also in less explored RSNs: the left and right frontoparietal networks (LFPN and RFPN, respectively) and salience network. More specifically, we assessed the functional connectivity of these three RSNs in HCs and two groups of MS patients differing in cognitive status. We sought to find possible functional connectivity alterations underlying the cognitive impairment observed in some MS patients, and to assess the possible existence of compensatory mechanisms in MS patients with preserved cognition.

Methods

Participants

A total of 60 right-handed MS patients (39 women) were recruited from the Hospital General de Castellón and

diagnosed with relapsing–remitting MS according to the revised McDonald criteria.¹⁸ Exclusion criteria included alcohol or other drug abuse, and history of psychiatric or any other cerebral diseases. Patients were not enrolled in the study if they received treatment with corticosteroids in the two months prior to the investigation. The disease severity of all patients was measured with the Expanded Disability Status Scale (EDSS) during the week of the scanning procedure.¹⁹ A control group of 18 right-handed HCs (eight women) with no history of medical disability were also included in this study.

Cognitive assessment

All participants were neuropsychologically assessed with the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N) validated for the Spanish population²⁰ that includes the Selective Reminding Test (SRT) and 10/36 Spatial Recall Test (SPART), which respectively assess verbal and visuospatial learning. Furthermore, the Symbol Digit Modalities Test (SDMT) and Paced Auditory Serial Addition Test-3 seconds (PASAT-3) were used as measures of information processing speed and working memory. Finally, the Word List Generation Test (WLGT) was used as an index of executive function.

Following the criteria described by Calabrese et al.,²¹ MS participants whose scores were two standard deviations below the corresponding normative mean on at least one test of the BRB-N were considered cognitively impaired (CI; $n = 30$) and the rest were considered cognitively preserved (CP; $n = 30$).

Approval was received from the local ethical standards committee on human experimentation, and written informed consent was obtained from all subjects participating in the study.

MRI data acquisition

fMRI resting-state data were acquired on a 1.5 T scanner (Siemens Avanto, Erlangen, Germany). A total of 270 volumes were recorded over nine minutes using a gradient-echo T2*-weighted echo-planar imaging sequence (repetition time (TR)/echo time (TE) = 2000/30 ms, matrix = $64 \times 64 \times 30$, voxel size = $3.5 \times 3.5 \times 4.02$ mm, flip angle = 90°). During the resting sequence, participants were instructed to stay motionless and relaxed with their eyes closed, to not fall asleep and to think of nothing in particular. Prior to the functional sequences, sagittal high-resolution three-dimensional (3D) MPRAGE T1 images were acquired (TR = 11 ms, TE = 4.9 ms, field of view (FOV) = 24 cm, matrix = $256 \times 224 \times 176$, voxel size = $1 \times 1 \times 1$ mm).

Brain and lesion volume measurements

Using high-resolution 3D images and the segmentation tool of Statistical Parametric Mapping 8 (SPM8; Wellcome

Trust Centre for Neuroimaging, London, UK), the brain parenchymal fraction (BPF) was computed for each participant according to the procedure described by Sanfilippo and colleagues.²²

After converting sagittal T1 images to axial images, T1-hypointense lesions were visually identified and semi-automatically drawn with Jim software (Version 5.0, Xinapse Systems, Northants, UK; <http://www.xinapse.com>). We used the T1-acquired images previously described by Ceccarelli et al.²³ to be more precise in detecting the lesions because we acquired 176 images. Lesion masks for each patient were created (transforming the regions of interest into independent images) using the same Jim software and then were binarised using the ImCalc module in SPM8.

RSN analysis

Rs-FC images were preprocessed using SPM8. Preprocessing included slice-timing correction for interleaved acquisitions using sinc-interpolation and resampling with the middle (29th) slice in time as a reference point. Head motion correction, spatial normalisation with a resampled voxel size of 3 mm³ to the Montreal Neurological Institute (MNI) space and spatial smoothing with an isotropic Gaussian kernel of 4-mm full width at half maximum (FWHM).

Independent component analysis (ICA) was conducted for all participants using the Group ICA of FMRI Toolbox (<http://icatb.sourceforge.net/groupica.htm>)²⁴ to find the predefined RSN independent components (ICs). Group-level spatial ICA was applied using the minimum description length criteria to determine the optimal number of ICs, and using the Infomax ICA algorithm²⁵ to extract 20 ICs. Twenty iterations of ICA were performed using ICASSO software to determine the reliability of the ICA algorithm,²⁶ and the estimated centrotypes were used as representative ICs. The individual IC maps and time courses were computed using back-reconstruction based on aggregate components of the ICA and the results from the data reduction step.²⁷ Finally, nine consistent ICs were extracted that are described in the supplementary material and Supplementary Figure 1. Considering the objectives of the present study, three networks related to cognitive processes were selected for further evaluation: (a) the DMN;²⁸ (b) the frontoparietal network that can be dissociated into the LFPN and RFPN, which represent two lateralised components encompassing frontal, parietal and temporal areas, and the cingulate gyrus;²⁹ and (c) the salience network that functions to segregate the most relevant stimuli in order to guide behaviour.³⁰ An analysis of variance (ANOVA), including age and gender as covariates, was calculated to compare rs-FC networks among groups (HC, CI patients and CP patients). Reported results survived family-wise error (FWE) correction for multiple comparisons at the cluster level ($p < 0.05$)

determined by Monte Carlo simulations using the AlphaSim utility in REST software (<http://www.restfmri.net>; $p < 0.005$ voxel-wise threshold, cluster-size criterion of 12 voxels). Next, we conducted different regression analyses to observe the relationship between rs-FC and: (a) global cognitive Z scores computed using all BRB-N tests and according to the criteria developed by Sepulcre et al.;²⁰ and (b) structural damage in terms of T1-lesion load and the BPF.

Behavioural statistical analysis

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (version 17.0, Chicago, IL, USA). Demographic, clinical, MRI and cognitive variables were compared among groups using one-way ANOVAs followed by the Scheffé post-hoc test. A regression analysis was used to assess if the rs-FC at the different RSNs (DMN, LFPN, RFPN and salience network) or the radiological variables (T1-lesion load and BPF) considered in this study could predict the cognitive status (global Z score of the BRB-N) of MS patients.

Results

Demographic, clinical, radiological and neuropsychological results for all participants are reported in Table 1. CI patients were older than HCs and presented greater physical disability than CP patients. With regard to MRI parameters, CI patients also presented lower BPFs than HCs and CP patients. The group of CP patients also differed in the measure of the BPF compared with HCs. As expected, MS patients characterised as CI showed poorer performance than CP patients and HCs on all BRB-N tests. More specifically, the numbers of CI patients obtaining scores below normal boundaries were: 22 (SRT), nine (SPART), seven (SDMT), 17 (PASAT-3) and 14 (WLGT).

A linear regression-based analysis confirmed that cognitive performance (global Z scores) of all MS patients could be satisfactorily predicted (overall $R^2 = 0.357$, $p < 0.001$) when using all neuropathological (BPF and lesion load) and neurofunctional parameters assessed in this study as predictive variables. Examination of the standardised regression coefficients revealed that the BPF (beta = 0.597, $p < 0.001$) and connectivity of the DMN (beta = 0.287, $p = 0.051$) were the most relevant variables to estimate the cognitive status of MS patients.

RSN results

Differences among groups in the RSNs are presented in Table 2 and Figure 1. Regarding the DMN, CI patients showed less rs-FC compared with HCs and CP patients, whereas both group of patients (CI and CP) showed less rs-FC at the LFPN compared with HCs. On the other hand,

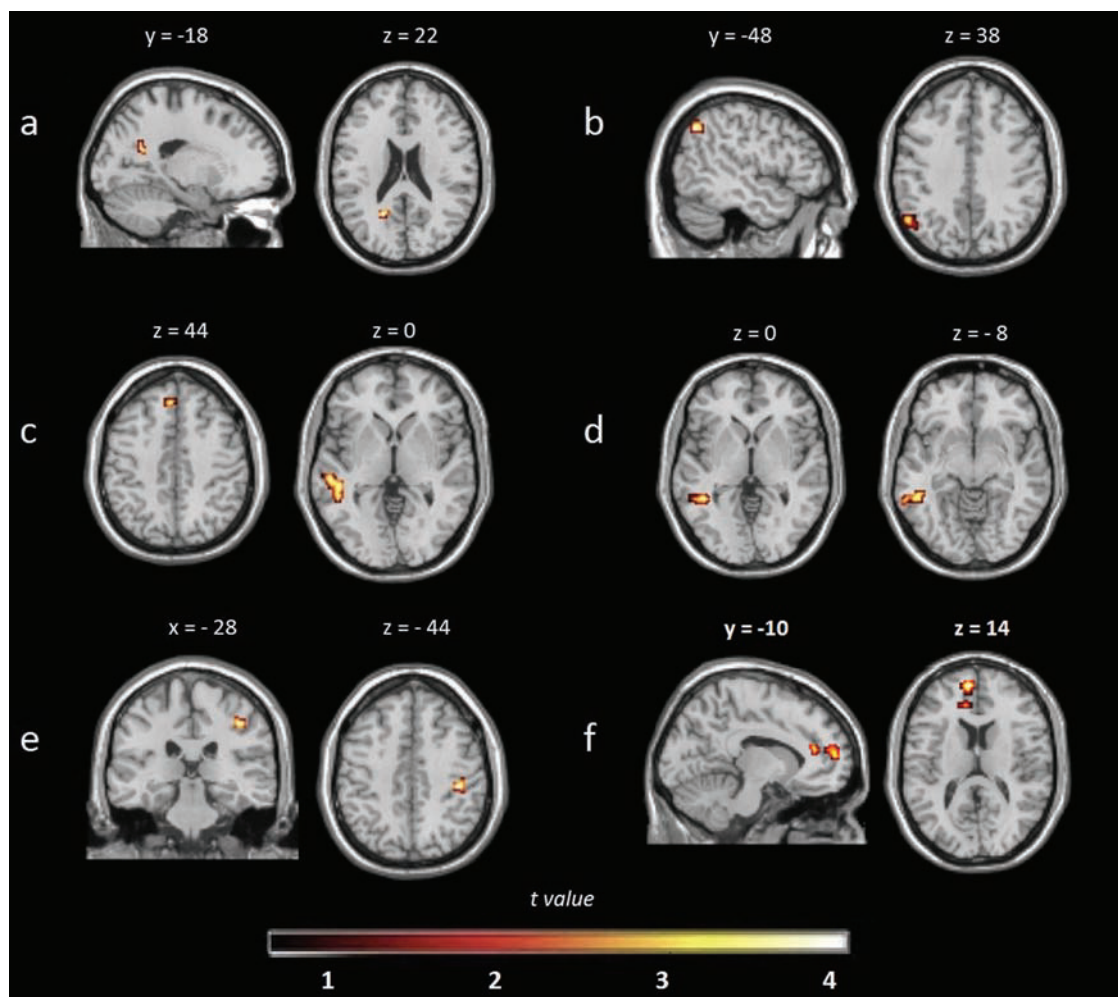


Figure 1. (a) Default mode network (DMN): decreased resting-state functional connectivity (rs-FC) in cognitively impaired (CI) patients compared with healthy controls (HCs); (b) DMN: decreased rs-FC in CI compared with cognitively preserved (CP) patients; (c) left frontoparietal network (LFPN): decreased rs-FC in CI patients compared with HCs; (d) LFPN: decreased rs-FC in CP patients compared with HCs; (e) right frontoparietal network (RFPN): decreased rs-FC in CI compared with CP patients; (f) salience network: decreased rs-FC in CI compared with CP patients. Images are presented in neurological convention and thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels), corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations.

less rs-FC was also observed in the RFPN and salience network in CI patients compared with CP patients.

Relationships found among cognitive status, and radiological and neurofunctional variables of MS patients are presented in Table 3 and Figures 2–4. First, only CP patients showed positive correlations between global cognitive Z scores and rs-FC in the RFPN and salience network, predominantly focused on frontal and parietal areas. Furthermore, positive correlations between BPFs and rs-FC at the DMN, LFPN and RFPN, including parietal areas and the anterior cingulate gyrus, were also found in CI and CP patients. Finally, negative correlations among rs-FC in all explored RSNs and T1-lesion load were also found in both patient groups. These negative correlations were observed again at several frontal and parietal areas, including the anterior and posterior cingulate gyri.

Discussion

In the present study, we explored the existence of adaptive functional connectivity changes associated with cognitive function in the DMN, LFPN, RFPN and salience network of MS patients. Our results reveal that CI patients display less rs-FC among different brain areas belonging to these RSNs, thus supporting the notion that RSN alterations may play a significant role in MS cognitive disturbances. On the other hand, CP patients exhibited a degree of connectivity indistinguishable from that of the HC group but stronger in several nodes of the explored RSNs compared with CI patients. These findings might be regarded as providing further support to the previously suggested importance of preserving connectivity within the RSNs to retain normal cognitive competence.

Table 1. Main demographic, clinical, MRI and neuropsychological characteristics of all participants.

	HCs (n = 18)	CP patients (n = 30)	CI patients (n = 30)	HC vs CP patients	HC vs CI patients	CP vs CI patients
Mean age (SD) (range)	31.06 (5.67) (22–44)	34.70 (5.48) (23–44)	38.17 (6.08) (20–47)	n.s.	.001	n.s.
Mean years of education (SD)	12.29 (1.99)	11.47 (2.63)	10.50 (2.89)	n.s.	n.s.	n.s.
Mean years of disease evolution (SD) (range)	—	5.50 (4.82) (1–18)	7.90 (5.53) (1–18)	—	—	n.s.
EDSS (range)	—	2.10 (0–6)	3.15 (1–7)	—	—	.009
FSS	—	31.87 (17.48)	40.57 (16.38)	—	—	n.s.
Mean T1 lesion volume (ml)	—	3.38 (5.30)	6.00 (14.05)	—	—	n.s.
Mean BPF (SD)	0.860 (0.015)	0.837 (0.038)	0.812 (0.038)	n.s.	.001	.009
SRT Long-Term Storage (SD)	51.00 (13.03)	48.77 (9.36)	32.70 (13.06)	n.s.	.001	.001
SRT Consistent Long-Term Retrieval (SD)	41.06 (11.37)	38.70 (10.12)	21.80 (12.69)	n.s.	.001	.001
SRT Delayed Recall (SD)	9.61 (1.78)	9.00 (1.85)	6.33 (2.84)	n.s.	.001	.001
10/36 SPART Long-Term Storage (SD)	22.83 (4.34)	22.83 (4.30)	17.27 (5.25)	n.s.	.001	.001
10/36 SPART Delayed Recall (SD)	8.00 (2.19)	7.90 (1.91)	5.70 (2.12)	n.s.	.002	.001
WLGT (SD)	23.11 (4.04)	23.90 (4.09)	16.60 (4.88)	n.s.	.001	.001
SDMT (SD)	57.94 (11.78)	56.60 (7.80)	37.13 (10.03)	n.s.	.001	.001
PASAT-3 s (SD)	46.94 (10.23)	48.13 (7.18)	18.37 (19.84)	n.s.	.001	.001

MRI: magnetic resonance imaging; n.s.: not significant; HC: healthy control; CI: cognitively impaired; CP: cognitively preserved; EDSS: Expanded Disability Status Scale; FSS: Fatigue Severity Scale; BPF: brain parenchymal fraction; SRT: Selective Reminding Test; SPART: Spatial Recall Test; WLGT: Word List Generation Test; SDMT: Symbol Digit Modalities Test; PASAT-3 s: Paced Auditory Serial Addition 3-Second Test.

More specifically, and in close similarity to previous studies,^{12,13} we observed that CI patients showed less connectivity in the DMN and LFPN compared with HCs. Interestingly, CP patients exhibited a greater degree of rs-FC than CI patients in the DMN, RFPN and salience network. The abovementioned findings are in agreement with other studies reporting that MS patients with preserved cognitive abilities display normal or enhanced rs-FC in RSNs,^{14–16,31} and these results have often been interpreted as adaptive functional changes compensating for cognitive deficits. Following this rationale, we may conclude that in our study, CP patients showed adaptive connectivity changes to compensate for potential cognitive deficits, although alternative explanations must also be considered (see below). The potential association between appropriate rs-FC and the cognitive status of MS patients was further reinforced by the results of our correlational analyses demonstrating that global cognitive Z scores of CP patients were positively correlated with degree of rs-FC in the medial frontal and inferior parietal areas of the salience network and RFPN, respectively. Loitfelder et al.³¹ recently reported that MS patients might require high rs-FC in the inferior parietal cortex and the angular gyrus to attain correct performance in attention and working memory tasks. Therefore, our findings are in agreement with accumulating evidence that seem to converge towards a relationship between reduced functional connectivity in the RSNs and cognitive impairment in MS patients.

Most RSN research on MS patients has primarily focused on the DMN.^{12,13} However, there are other networks associated with resting processes that may be of special relevance when studying cognitive deficits in MS patients. For example, the LFPN and RFPN are RSNs that are highly consistent among participants and that only recently have started to receive proper attention in the context of MS research.^{14,17} The LFPN and RFPN engage areas distant from the frontal and parietal lobes, which may be especially prone to MS pathophysiology. In fact, many recent fMRI studies have explored the engagement of frontoparietal networks associated with performance in attention and working memory tasks under the assumption that disconnection among distal frontoparietal areas may underlie primary cognitive deficits in MS.^{3,6,8} Therefore, the LFPN and RFPN may be especially relevant to understanding cognitive impairment in MS patients, which seems to be supported by our results demonstrating clear differences among groups in those networks. In this regard, CP patients did not show a significant increase in LFPN rs-FC but did show greater RFPN rs-FC compared with CI patients, and the magnitude of this increase was correlated with cognitive performance (global Z scores). Combining these results, we may deduce that although CI as well as CP patients showed deficits in the LFPN,

Table 2. Mean (SD) values of z scores of resting state activity within the clusters that show significant differences among HC, CI and CP patients. Results are thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels) corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations.

	Cluster	MNI space	HC	CP	CI	p
DMN						
CI < HC	L parietal lobe	-21 -58 22	2.80 (1.15)	—	1.79 (1.08)	.004
CI < CP	L parietal lobe	-54 -61 37	—	1.98 (0.68)	1.37 (0.72)	.009
LFPN						
CI < HC	L superior temporal lobe	63 -49 -5	1.90 (0.64)	—	1.28 (0.68)	.006
	L medial frontal lobe	-3 35 43	1.33 (0.59)	—	0.79 (0.63)	.017
CP < HC	L temporal lobe	-63 -49 -5	1.92 (0.60)	1.17 (0.72)	—	.000
RFPN						
CI < CP	R postcentral gyrus	42 -25 43	—	1.04 (0.49)	0.62 (0.40)	.003
Salience						
CI < CP	L medial frontal lobe	-6 56 13	—	3.04 (0.71)	1.99 (0.53)	.000
	L anterior cingulate	-12 38 16	—	1.56 (0.55)	0.95 (0.48)	.000

HC: healthy control; CI: cognitively impaired; CP: cognitively preserved; MNI: Montreal Neurological Institute; L: left; R: right; DMN: default mode network; LFPN: left frontoparietal network; RFPN: right frontoparietal network.

Table 3. Correlations among resting-state networks, and cognitive and radiological variables. Thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels) corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations

Group	Dependent variable	r	Area	MNI coordinates
Correlations with Z global score				
CP patients	RFPN	0.70	R inferior parietal lobe	39 -34 28
		0.70	R parietal lobe	30 -34 40
CP patients	Salience	0.66	R medial frontal gyrus	6 -10 -2
Correlations with BPF				
CI patients	DMN	0.60	L precuneus	-3 -43 46
		0.64	R anterior cingulate gyrus	3 44 13
CP patients	LFPN	0.60	R superior temporal gyrus	57 -25 1
CI patients	RFPN	0.66	R parietal precuneus	6 -37 46
		0.52	R insula	30 -13 16
		0.62	R posterior cingulate	3 -34 22
CP patients	RFPN	0.55	R inferior parietal lobe	42 -46 55
Correlations with TI LL				
CI	DMN	-0.71	R precentral gyrus	60 -4 14
CP	DMN	-0.65	R supramarginal gyrus	48 -43 31
CI	LFPN	-0.57	L medial temporal gyrus	0 59 22
CP	LFPN	-0.67	L middle frontal gyrus	-42 17 31
		-0.63	L precuneus	-3 -67 37
		-0.79	R superior frontal gyrus	18 53 37
CI	RFPN	-0.65	L medial frontal gyrus	-6 38 40
		-0.73	R posterior cingulate	9 -43 34
		-0.73	R postcentral gyrus	48 -31 58
CP	RFPN	-0.73	R postcentral gyrus	48 -31 58
CI	Salience	-0.75	B paracentral lobule	0 -43 52
CP	Salience	-0.74	L anterior cingulate gyrus	-3 26 37
		-0.59	R anterior cingulate gyrus	3 20 22

HC: healthy control; CI: cognitively impaired; CP: cognitively preserved; MNI: Montreal Neurological Institute; L: left; R: right; B: bilateral; DMN: default mode network; LFPN: left frontoparietal network; RFPN: right frontoparietal network; BPF: brain parenchymal fraction; TI LL: TI-lesion load.

only CP patients could retain normal cognitive competence by sustaining proper connectivity among RFPN areas. The notion that increased recruitment of the right

side is critical for cognitive performance was previously posed by fMRI studies using tasks that require engagement of the LFPN and RFPN.^{2,5,8}

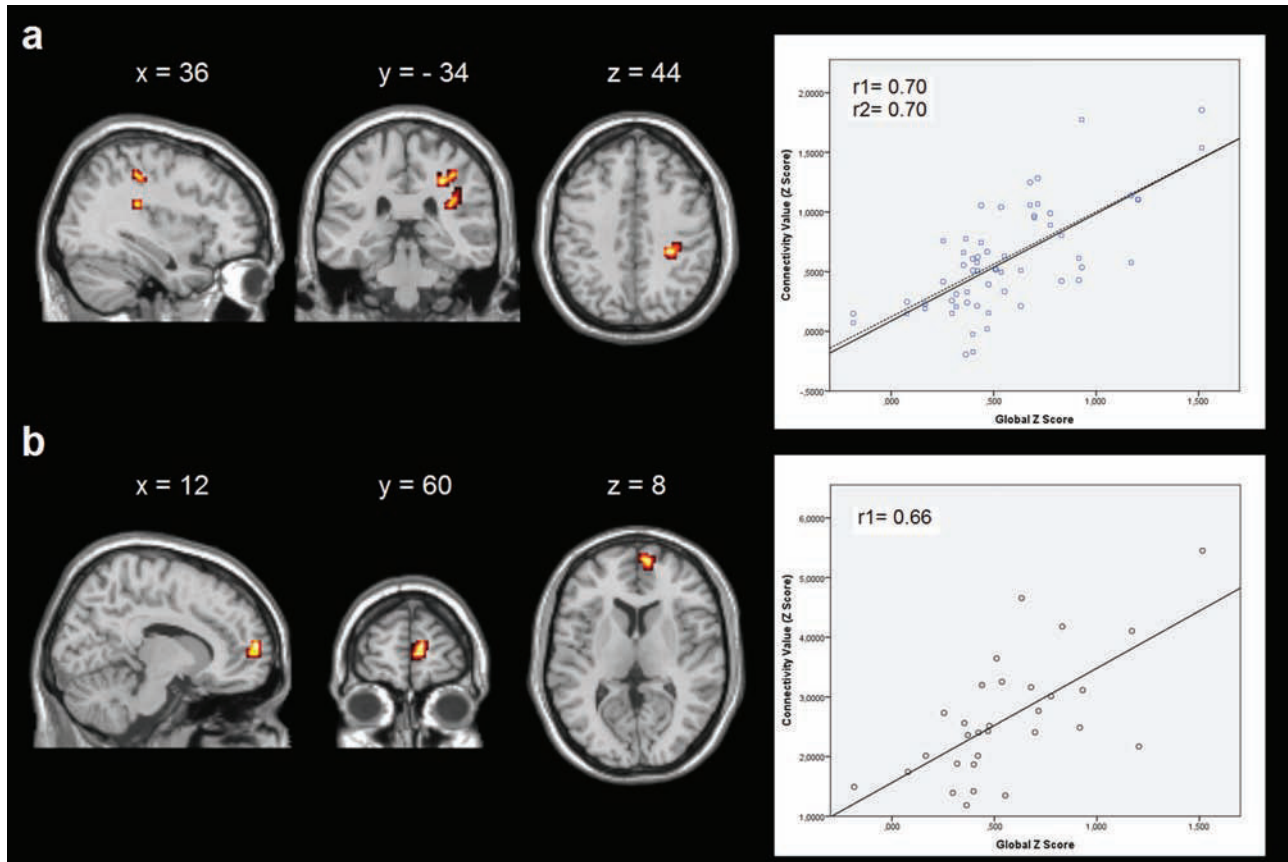


Figure 2. Correlations between resting-state functional connectivity (rs-FC) and global cognitive Z scores. (a) Correlation in the right frontoparietal network (RFPN) in cognitively preserved (CP) patients; (b) correlation in the salience network in CP patients. Images are presented in neurological convention and thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels), corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations.

We also studied the salience network associated with behavioural control functions.³⁰ The relationship between rs-FC in this network and the cognitive status of MS patients had not been previously explored in MS patients, although a recent study described an association between decreased connectivity in this network in relapsing–remitting MS patients and their clinical disability compared with HCs.³² In our study, CI patients showed reduced rs-FC at the anterior cingulate gyrus in the salience network compared with the CP group. The significance of anterior cingulate activation for cognition in MS is supported by the results of Rocca et al.¹² describing reduced connectivity at the anterior cingulate gyrus in CI patients compared with CP patients.

Cerebral reorganisation is secondary to structural damage.^{14,33,34} Previous data suggest that these functional restructuring processes appear when levels of brain damage are low but that these processes can no longer be triggered when damage is more extensive.³³ Following this line of reasoning, we investigated the role of radiological variables in the different connectivity networks. MS patients (either CI or CP) with higher volume of lesions showed less

rs-FC in all cognitive networks explored as compared to those patients with less lesion volume, thus suggesting that disease in white matter disrupt the pathways that mediate the transmission of information across brain networks.³⁵ In this regard, we also observed that BPFs were positively correlated with rs-FC networks in both groups of patients; that is, patients with more brain volume were more cognitively preserved than patients with less brain volume. As expected from previous studies,³⁵ atrophy was accompanied by alterations in the networks' connectivity and both kinds of alterations probably underlie the reduction of cognitive performance observed in MS patients. This proposal is also supported by the results of the regression analysis performed in the present study, which revealed that the BPF was the best predictor of cognitive performance of MS patients.

In conclusion, this study extends our knowledge about functional alterations of RSNs in MS patients and their possible relationship with cognitive performance. We observed that brain injury was accompanied by reduced functional connectivity at different RSNs, which may probably be responsible for the onset and progression of cognitive

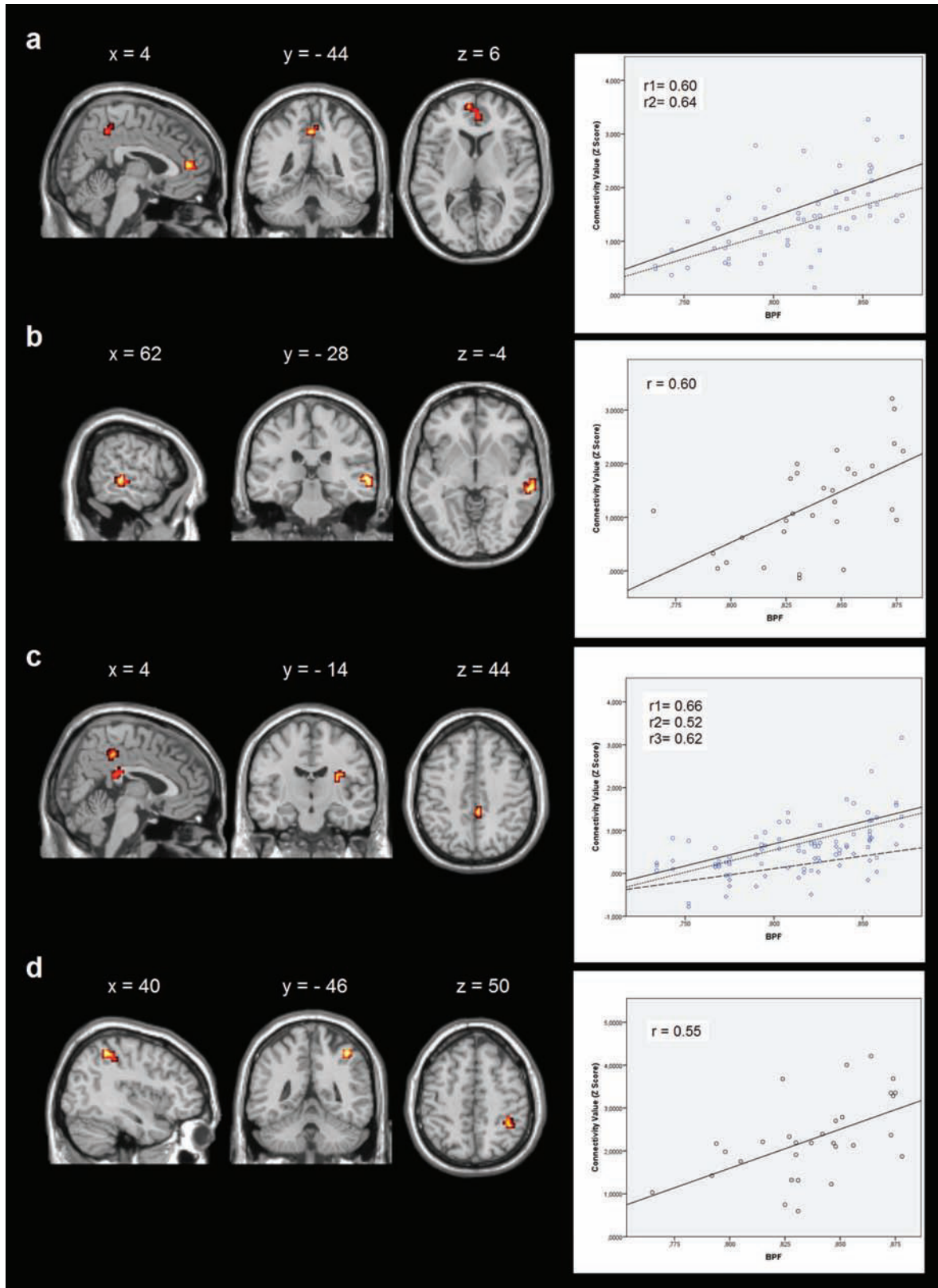


Figure 3. Correlations between resting-state functional connectivity (rs-FC) and brain parenchymal fractions (BPF). (a) Correlation in the default mode network (DMN) in cognitively impaired (CI) patients; (b) correlation in the left frontoparietal network (LFPN) in cognitively preserved (CP) patients; (c) correlation in the right frontoparietal network (RFPN) in CI patients; (d) correlation in the RFPN in CP patients. Images are presented in neurological convention and thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels), corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations.

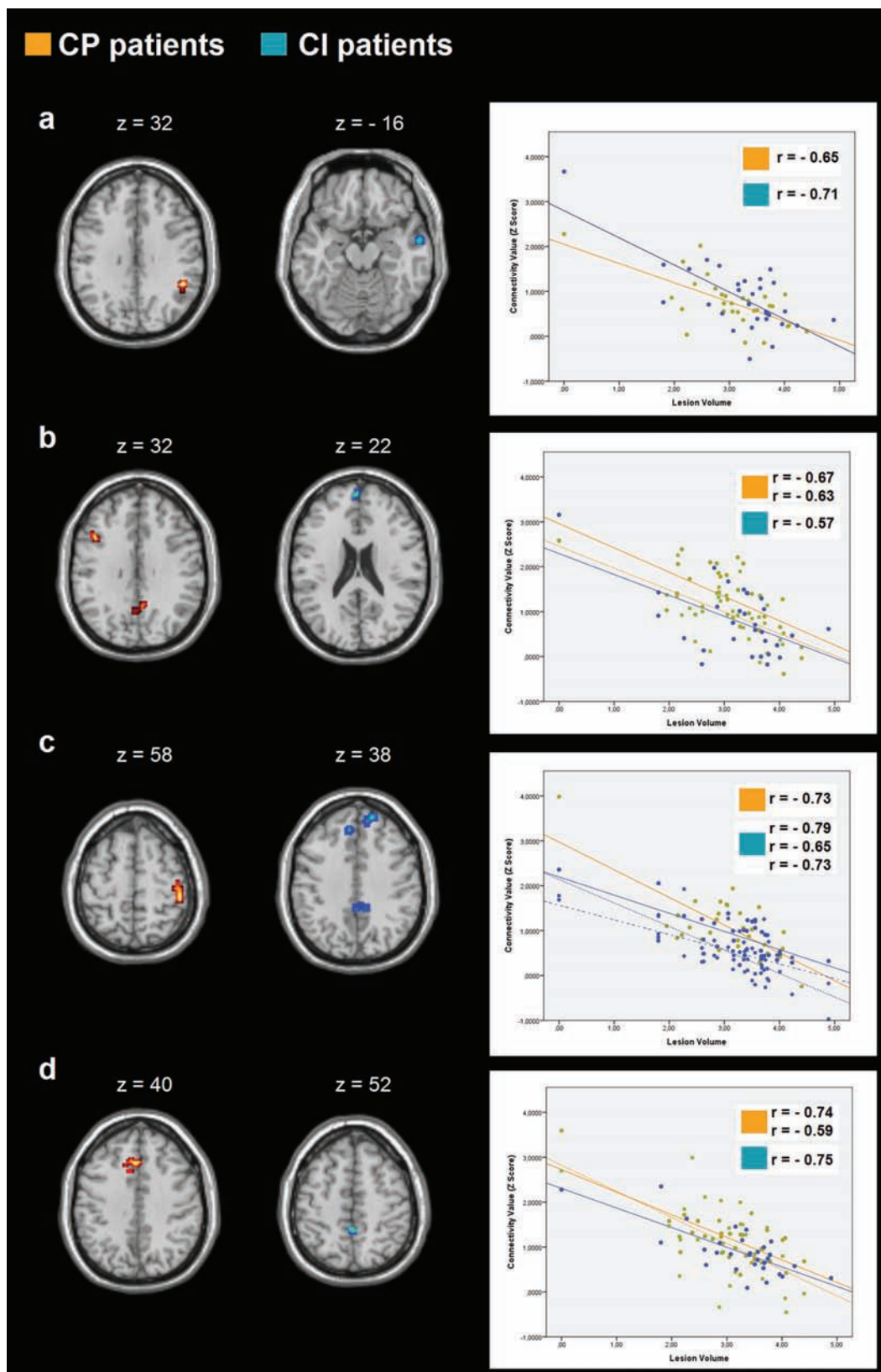


Figure 4. Correlations between resting-state functional connectivity (rs-FC) and TI-lesion load (LL). (a) Correlation in the default mode network (DMN); (b) correlation in the left frontoparietal network (LFPN); (c) correlation in the right frontoparietal network (RFPN); (d) correlation in the salience network. Images are presented in neurological convention and thresholded at $p < 0.005$ ($k = 12$ voxels), corrected for multiple comparisons using Monte Carlo simulations.

deficits in MS patients. However, and contrary to our initial hypothesis, CP patients did not exhibit a stronger degree of connectivity than HCs in any of the RSNs evaluated. In this regard, it should be noted that the discrepant size of the groups may have led to a reduction in statistical potency of our analysis resulting in false-negative findings. Future studies assessing rs-FC will help to further clarify the use of RSN activity markers to characterise and predict cognitive performance in MS patients and to determine if engaging compensatory neuroplastic mechanisms is required to retain cognitive competence despite disease progression.

Conflict of interest statement

None declared.

Funding

This work was supported by the Brainglot project of the CONSOLIDER-INGENIO 2010 Programme (CSD2007-00012). The project was also supported by grants PSI2010-20168 from MINECO, P1-1B2011-09 from Universitat Jaume I and an educational grant from Biogen Idec.

References

- Hawellek DJ, Hipp JF, Lewis CM, et al. Increased functional connectivity indicates the severity of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 19066–19071.
- Audoin B, Ibarrola D, Ranjeva JP, et al. Compensatory cortical activation observed by fMRI during a cognitive task at the earliest stage of MS. *Hum Brain Mapp* 2003; 20: 51–58.
- Au Duong MV, Boulanouar K, Audoin B, et al. Modulation of effective connectivity inside the working memory network in patients at the earliest stage of multiple sclerosis. *Neuroimage* 2005; 24: 533–538.
- Au Duong MV, Audoin B, Boulanouar K, et al. Altered functional connectivity related to white matter changes inside the working memory network at the very early stage of MS. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25: 1245–1253.
- Cader S, Cifelli A, Abu-Omar Y, et al. Reduced brain functional reserve and altered functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *Brain* 2006; 129: 527–537.
- Forn C, Barros-Loscertales A, Escudero J, et al. Cortical reorganization during PASAT task in MS patients with preserved working memory functions. *Neuroimage* 2006; 31: 686–691.
- Forn C, Barros-Loscertales A, Escudero J, et al. Compensatory activations in patients with multiple sclerosis during preserved performance on the auditory N-back task. *Hum Brain Mapp* 2007; 28: 424–430.
- Forn C, Rocca MA, Valsasina P, et al. Functional magnetic resonance imaging correlates of cognitive performance in patients with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis at presentation: An activation and connectivity study. *Mult Scler* 2012; 18: 153–163.
- Bonnet MC, Allard M, Dilharreguy B, et al. Cognitive compensation failure in multiple sclerosis. *Neurology* 2010; 75: 1241–1248.
- Cifelli A and Matthews PM. Cerebral plasticity in multiple sclerosis: Insights from fMRI. *Mult Scler* 2002; 8: 193–199.
- Fox MD and Greicius M. Clinical applications of resting state functional connectivity. *Front Syst Neurosci* 2010; 4: 19.
- Rocca MA, Valsasina P, Absinta M, et al. Default-mode network dysfunction and cognitive impairment in progressive MS. *Neurology* 2010; 74: 1252–1259.
- Bonavita S, Gallo A, Sacco R, et al. Distributed changes in default-mode resting-state connectivity in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17: 411–422.
- Roosendaal SD, Schoonheim MM, Hulst HE, et al. Resting state networks change in clinically isolated syndrome. *Brain* 2010; 133: 1612–1621.
- Hulst HE and Geurts JJ. Gray matter imaging in multiple sclerosis: What have we learned? *BMC Neurol* 2011; 11: 153.
- Sumowski JF, Wylie GR, Leavitt VM, et al. Default network activity is a sensitive and specific biomarker of memory in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013; 19: 199–208.
- Faivre A, Rico A, Zaaraoui W, et al. Assessing brain connectivity at rest is clinically relevant in early multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18: 1251–1258.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011; 69: 292–302.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444–1452.
- Sepulcre J, Vanotti S, Hernández R, et al. Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Mult Scler* 2006; 12: 187–195.
- Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, et al. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009; 66: 1144–1150.
- Sanfilippo MP, Benedict RHB, Zivadinov R, et al. Correction for intracranial volume in analysis of whole brain atrophy in multiple sclerosis: The proportion vs. residual method. *Neuroimage* 2004; 22: 1732–1743.
- Ceccarelli A, Bakshi R and Neema M. MRI in multiple sclerosis: A review of the current literature. *Curr Opin Neurol* 2012; 25: 402–409.
- Calhoun VD, Adali T, Pearlson GD, et al. A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Hum Brain Mapp* 2001; 14: 140–151.
- Bell AJ and Sejnowski TJ. An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Comput* 1995; 7: 1129–1159.
- Himberg J, Hyvärinen A and Esposito F. Validating the independent components of neuroimaging time series via clustering and visualization. *Neuroimage* 2004; 22: 1214–1222.
- Erhardt EB, Rachakonda S, Bedrick EJ, et al. Comparison of multi-subject ICA methods for analysis of fMRI data. *Hum Brain Mapp* 2011; 32: 2075–2095.
- Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, et al. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 676–682.
- Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F, et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 13848–13853.

30. Menon V and Uddin LQ. Saliency, switching, attention and control: A network model of insula function. *Brain Struct Funct* 2010; 214: 655–667.
31. Loitfelder M, Filippi M, Rocca M, et al. Abnormalities of resting state functional connectivity are related to sustained attention deficits in MS. *PloS One* 2012; 7: e42862.
32. Rocca MA, Valsasina P, Martinelli V, et al. Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Neurology* 2012; 79: 1449–1457.
33. Schoonheim MM, Geurts JJ and Barkhof F. The limits of functional reorganization in multiple sclerosis. *Neurology* 2010; 74: 1246–1247.
34. Rocca MA, Gatti R, Agosta F, et al. Influence of task complexity during coordinated hand and foot movements in MS patients with and without fatigue. A kinematic and functional MRI study. *J Neurol* 2009; 256: 470–482.
35. Filippi M and Rocca MA. MRI and cognition in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2010; 3 (Suppl 2): S231–S234.

2.6 Estudio 3

Regional brain atrophy and functional connectivity changes
related to fatigue in multiple sclerosis

Cruz-Gómez AJ, Ventura-Campos N, Belenguer A, Ávila C and Forn C.

Publicado en Plos One (2013)

Regional Brain Atrophy and Functional Connectivity Changes Related to Fatigue in Multiple Sclerosis

Álvaro Javier Cruz Gómez¹, Noelia Ventura Campos¹, Antonio Belenguer², César Ávila¹, Cristina Forn^{1*}

1 Departament de Psicologia Bàsica, Clínica i Psicobiologia, Universitat Jaume I, Castelló de la Plana, Castellón, Spain, **2** Servicio de Neurología, Hospital General de Castellón, Castelló de la Plana, Castellón, Spain

Abstract

Fatigue is one of the most frequent symptoms in multiple sclerosis (MS), and recent studies have described a relationship between the sensorimotor cortex and its afferent and efferent pathways as a substrate of fatigue. The objectives of this study were to assess the neural correlates of fatigue in MS through gray matter (GM) and white matter (WM) atrophy, and resting state functional connectivity (rs-FC) of the sensorimotor network (SMN). Eighteen healthy controls (HCs) and 60 relapsing-remitting patients were assessed with the Fatigue Severity Scale (FSS). Patients were classified as fatigued (F) or nonfatigued (NF). We investigated GM and WM atrophy using voxel-based morphometry, and rs-FC changes with a seed-based method and independent component analysis (ICA). F patients showed extended GM and WM atrophy focused on areas related to the SMN. High FSS scores were associated with reductions of WM in the supplementary motor area. Seed analysis of GM atrophy in the SMN showed that HCs presented increased rs-FC between the primary motor and somatosensory cortices while patients with high FSS scores were associated with decreased rs-FC between the supplementary motor area and associative somatosensory cortex. ICA results showed that NF patients presented higher rs-FC in the primary motor cortex compared to HCs and in the premotor cortex compared to F patients. Atrophy reduced functional connectivity in SMN pathways and MS patients consequently experienced high levels of fatigue. On the contrary, NF patients experienced high synchronization in this network that could be interpreted as a compensatory mechanism to reduce fatigue sensation.

Citation: Cruz Gómez AJ, Ventura Campos N, Belenguer A, Ávila C, Forn C (2013) Regional Brain Atrophy and Functional Connectivity Changes Related to Fatigue in Multiple Sclerosis. PLoS ONE 8(10): e77914. doi:10.1371/journal.pone.0077914

Editor: Yong He, Beijing Normal University, China

Received: May 22, 2013; **Accepted:** September 13, 2013; **Published:** October 22, 2013

Copyright: © 2013 Cruz Gómez et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was supported by Brainlot project of the CONSOLIDER-INGENIO 2010 Program grant number CSD2007-00012; by grants PSI2010-20168 from MINECO and P1-1B2011-09 from Universitat Jaume I as well as an educational grant from Biogen Idec to CA. The authors take the opportunity to clarify that the funders of this research did not play any role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. Finally, the authors state that receiving funding from a commercial company (Biogen Idec) or a government agency (MINECO) does not alter their adherence to all the PLOS ONE policies on sharing data and materials.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: forn@psb.uji.es

Introduction

Fatigue is defined as an overwhelming sense of tiredness, lack of energy, or exhaustion [1]. It is one of the most disabling symptoms in patients with multiple sclerosis (MS), affecting between 50% and 80% of them [2]. Fatigue experienced by patients with MS seems to be distinct from fatigue in healthy individuals or those with other neurological diseases [3], and carries a major physical and psychological burden [4]. The pathogenesis of fatigue in MS is not fully understood, likely due to the multifactorial etiology of fatigue in these patients [4].

Magnetic resonance imaging (MRI) studies have contributed to describe possible factors related to this disabling symptom. Although initial studies yielded conflicting results [5,6], recent reports have described an association between fatigue and higher lesion load as well as gray matter (GM) atrophy [7–11].

Regarding whether or not lesion load or GM atrophy in specific brain areas could play a role in the occurrence and clinical characteristics of fatigue, volumetric studies have described alterations in frontal motor areas and certain subcortical areas, such as the thalamus and basal ganglia, that may be especially relevant [12–14]. Accordingly, it has been proposed that MS lesions at circuits relating to motor and premotor functions, and their afferent and efferent connections with several subcortical areas, could be the main substrate of fatigue in this clinical population [13]. Evidence for such dysfunction of the motor networks has been also provided by functional MRI (fMRI) studies in which fatigued patients showed increased activation in those circuits while performing a motor task [15,16]. More recently, these studies have been devoted to exploring patterns of spontaneous and synchronized activity in different brain regions during resting-state fMRI. Activity of these resting-state

networks (RSNs) resembles that of neuroanatomical networks involved in specific sensory, motor, and cognitive functions, and it is thought that this activity does not only reflect intrinsic brain functional organization but also serves to stabilize brain ensembles [17]. One of the RSNs is the sensorimotor network (SMN), which is related to functional activity in the sensorimotor system and is therefore a network that may be relevant to the emergence of fatigue-related symptoms. Although activity of the SMN has been studied in MS patients in relation to their motor impairment [18–20], there are no studies addressing a possible relationship between SMN synchronization and fatigue in these patients.

We hypothesized that variability in the organization and activity of motor networks could be related to the fatigue symptoms observed in MS patients. To test this hypothesis, we applied VBM and connectivity analyses on the RSNs trying to: 1) observe possible differences between fatigued (F) and nonfatigued (NF) patients compared to healthy controls (HCs) in GM and white matter (WM) volume, and their possible relationship with scores on an assessment of fatigue; 2) evaluate if the relationship between structural damage in motor areas and functional connectivity alterations within the SMN may account for fatigue; and 3) discern possible differences among the three groups of the study in intrinsic resting-state functional connectivity (rs-FC) of the SMN.

Materials and Methods

Participants

We recruited 60 relapsing-remitting MS patients diagnosed according to the McDonald criteria [21] and 18 HCs with no previous history of neurological dysfunction. Recruited patients had no history of neurological or psychiatric disorders other than MS, and no receiving steroids-based treatment or experiencing a clinical relapse in the previous 2 months or other concomitant therapy as antidepressant or therapy for fatigue. MS disability was evaluated with the Expanded Disability Status Scale [22] and fatigue was assessed with the Fatigue Severity Scale (FSS) [23]. Depression symptomatology was assessed with the Chicago multiscale depression inventory (CMDI). According to previous studies [10], patients who obtained an FSS score of greater than or equal to 4 were considered F ($N = 32$), whereas those with an FSS score of less than 4 were considered NF ($N = 28$).

Standard protocol approvals and patient consents. Approval was received from the local ethical standards committee on human experimentation of Universitat Jaume I and Hospital General and written informed consent was obtained from all subjects.

MRI Acquisition

The fMRI session consisted of resting-state data acquired on a 1.5 T scanner (Siemens Avanto, Erlangen, Germany). A total of 270 volumes were recorded over 9 minutes using a gradient-echo T2*-weighted echo-planar imaging sequence (TR/TE = 2000/30 ms, matrix = 64 x 64 x 30, voxel size = 3.5 x 3.5 x 4.02 mm, flip angle = 90°). Participants were instructed to keep their eyes closed, stay motionless and relaxed without falling asleep,

and think of nothing in particular. Prior to the functional sequences, a sagittal high-resolution three-dimensional (3D) T1-weighted sequence was acquired (TR = 11 ms, TE = 4.9 ms, FOV = 24 cm, matrix = 256 x 224 x 176, voxel size = 1 x 1 x 1 mm).

Lesion Volume and Brain Volume Measurements

GM and WM volumes, and intracranial volume (ICV) for every participant were obtained from 3D T1 images using the unified segmentation approach of Statistical Parametric Mapping (SPM) 8 software (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK).

In all patients, T1-hypointense lesions were manually identified and were semiautomated painted as regions of interest (ROIs) with the Jim software (Version 5.0, Xinapse Systems, Northants, UK; <http://www.xinapse.com>) using the T1 sagittal images converted to axial. We used the T1 acquired images as previously described by Ceccarelli et al., (2012) [24] to be more precise detecting the lesions because in this case, 176 images were acquired. Lesion masks for each patient were created (transforming the ROIs into independent images) using the same Jim software and then binarized using ImCalc module in SPM v.8. We also created lesion probability maps from all the 3D binary masks using a threshold of 0.1, showing voxels in which a lesion was presented in at least 10% of the patients [25].

After this, we used Lesion Filling tool [26] of the FMRIB Software Library (FSL, www.fmrib.ox.ac.uk/fsl) [27]. This tool takes the binary lesion masks together with the T1 sagittal images and creates a new structural image with lesion areas “filled” with intensities of neighborhood white matter voxels. These new images were used to improve the segmentation process of VBM analysis to obtain a more accurate GM and WM volumes.

Then images were reoriented along the anterior-posterior commissure. Optimized VBM was performed on the 3D lesion filled images using Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponential Lie Algebra (DARTEL) included in SPM v. 8. The reoriented images were segmented into GM, WM, and cerebrospinal fluid images in native space, and then generated by a rigid transformation. The resolution of the aligned images was specified as 1.5 x 1.5 x 1.5 mm³. The study-specific GM and WM templates were then created by the aligned images from all patients and controls. The procedure began with the generation of an original template, computing the average of all aligned data, followed by the first iteration of the registration for each participant in turn. Thus, a new template was created and the second iteration began. After six iterations, the template was generated, which was the average of the DARTEL registered data. During iterations, all images were warped to the template, yielding a series of flow fields and parameterized deformations, which were employed in the modulation step. Since this was processed in native space, it was necessary to transform all the normalized, modulated data into Montreal Neurological Institute (MNI) space. After the space transformation, all these images were smoothed using an isotropic Gaussian kernel with 8-mm full width at half maximum.

The distribution of brain atrophy and differences among groups were assessed using an ANCOVA for GM and WM, including age, gender, and ICV as nuisance covariates. Finally, linear regression analyses were used to assess the relationship between WM and GM atrophy and FSS scores in all MS patients as a whole but also in F and NF patients separately.

For all analyses, we used a family-wise error correction for multiple comparisons at the cluster level ($p < .05$) determined by Monte Carlo simulations conducted with the AlphaSim utility in REST software (<http://www.restfmri.net/>), implementing a voxel-wise threshold of $p < .001$ in combination with a cluster-size criterion of 132 voxels for GM and 146 voxels for WM [28].

RSN Analysis

The rs-FC analysis was performed with two methods: a seed-based rs-FC method using the GM atrophy in sensorimotor areas as seeds to study whether the structural change causes a functional change in these areas, and independent component analysis (ICA) to show the differences in rs-FC of the network associated with the SMN. Both methods required specific preprocessing that is described in the supplementary material.

Seed-Based Rs-FC Analysis

We tested the relationship between GM atrophy and rs-FC using regions of interest obtained in the VBM results (specifically in the contrast between F patients and HCs) in areas that we considered part of the sensorimotor cortex that includes the bilateral supplementary motor area (SMA), lateral primary motor cortex (PMC), and bilateral thalamus (see VBM results and seed-based Rs-FC results). After preprocessing, these regions of interest were resliced to the same normalization space of rs-fMRI data for subsequent rs-FC analysis. We computed voxel-wise rs-FC maps to disentangle the networks evoked by the seed regions. This method allowed us to study the rs-FC (Pearson's correlation) of the seed region with all other voxels in the whole brain for each participant. Individual r-maps were normalized to z-maps using Fisher's Z transformation. A one-sample t-test for each region was performed by entering the z-maps to detect brain areas showing significant rs-FC across participants and to obtain functional connectivity maps for each group (see seed-based Rs-FC results). To examine the changes in rs-FC between groups we performed a between-subjects ANOVA. Finally, we examined a possible relationship between rs-FC and FSS scores using a regression analysis. To avoid a possible confounding effect due to excessive head motion [29], we calculated the mean FD [30] using DPARSF (see Supplementary information), which was used as a covariate in each and all ANOVAs used to evaluate between-groups comparisons. We also performed an ANOVA with the mean FD to assess possible differences in head motion between the three groups.

Rs-FC Analysis of RSNs

Intrinsic activity measured with rs-fMRI is organized in a limited number of RSNs and this finding has been replicable across studies [31,32]. To obtain these predefined RSNs, we

performed an ICA for all participants, implemented in Group ICA of fMRI Toolbox (GIFT) software (<http://icatb.sourceforge.net/>) [33]. A group-level spatial ICA using an infomax ICA algorithm [34] was utilized to extract 20 independent components (ICs). We identified one IC as the SMN (see Results and supplementary material) and used this RSN to show the differences in rs-FC of the network associated with motor areas among groups with a between-subjects ANOVA.

All rs-FC results were presented using family-wise error corrected for multiple comparisons at the cluster level ($p < .05$) determined by whole-brain Monte Carlo simulations conducted with AlphaSim implemented in REST (voxel-wise threshold of $p < .005$; cluster-size criterion of 12 voxels).

Results

Table 1 summarizes demographic, clinical, and MRI characteristics of each group of participants. ICV was significantly larger in HCs than in both subgroups of MS patients. On the other hand, F patients had higher scores in the EDSS scale as well as in all CDMI subscales. F patients exhibited higher scores than HC in all CDMI scales except in that measuring vegetative symptoms. In addition, no significant differences head motion values between groups ($p > 0.10$) were observed. FSS and EDSS scores were not significantly correlated (F patients: $\rho=0.062$, $p=0.73$; NF patients: $\rho=0.16$, $p=0.39$).

VBM Results

Compared to HCs, NF patients exhibited a higher degree of GM atrophy in the right paracentral gyrus (SMA), different areas of the bilateral temporal and occipital lobes, the right precuneus, and bilateral thalamus (see Figure 1A). Compared to the HC group, F patients exhibited GM atrophy in the paracentral gyrus (SMA), bilateral precentral gyrus (PMC), bilateral occipital lobe, precuneus, and posterior cingulate gyrus (see Figure 1B). Differences between both patient subgroups were observed in the left cerebellum (MNI -11 -74 -39, $k = 379$, $t = 4.02$) where F patients showed a reduction of GM volume compared to NF patients (see Figure 1C). No differences were observed in the reverse contrasts.

In comparison to the HC group, WM structural changes in NF patients achieved statistical significance in several WM areas of the bilateral frontal lobe, right middle cingulate gyrus, bilateral posterior cingulate gyrus, bilateral temporal and occipital lobes, around the left thalamus, and bilateral corpus callosum (see Figure 1A). Compared to HCs, F patients showed WM alterations that extended into a larger number of brain regions in the frontal (including the motor areas and insula), temporal, occipital, and parietal lobes. F patients also showed WM atrophy around the bilateral thalamus, bilateral corpus callosum, and WM of cingulate gyrus (anterior, middle, and posterior parts), and WM of the bilateral brainstem, and cerebellum (see Figure 1B). On the other hand, compared to the NF group, F patients showed WM atrophy in left frontal areas ($k = 1381$) that included the left medial frontal gyrus of the SMA (MNI -9 5 55, $t = 4.55$), left superior frontal gyrus (MNI

Table 1. Main demographic, clinical and MRI characteristics from all participants.

	HC n=18	NF n= 28	F n=32	HC vs. NF	HC vs. F	NF vs. F
Gender (male / female)	10 / 8	10 / 18	11 / 21	n.s.	n.s.	n.s.
Age mean (SD) [range]	31.06 (5.67) [22-44]	34.96 (5.87) [20-44]	37.72 (5.90) [22-47]	n.s.	.001	n.s.
Years of evolution disease mean (SD) [range]		5.14 (3.69) [1-14]	7.44 (5.15) [1-14]			n.s.
FSS mean (SD)		2.21 (0.96)	5.6 (0.85)			.000
EDSS mean (SD) [range]		1.96 (1.20) [0-5]	3.20 (1.68) [1-6]			.002
CMDI Mood Scale mean (SD)	22 (7.44)	21.21 (7.04)	32.14 (12.11)	n.s.	.003	.000
CMDI Evaluative Scale mean (SD)	17 (3.76)	17.14 (4.2)	25.41 (10.1)	n.s.	.001	.000
CMDI Vegetative Scale mean (SD)	32.11 (8.67)	25.75 (7.21)	38.59 (10.52)	n.s.	n.s.	.000
CDMI Total Score mean (SD)	71.11(16.02)	64.11(16.23)	96.14 (29.90)	n.s.	.002	.000
T1 LV (ml) mean (SD)		3.16 (3.97)	6.03 (14.02)		n.s.	n.s.
ICV ml mean.(SD)	1261.24 (102.63)	1141.34 (121.98)	1101.16 (144.74)	.011	.000	n.s.

Abbreviations: HC = healthy controls; NF = non fatigued; F = fatigued; CMDI = Chicago multiscale depression inventory; LV= lesion volume; ml = milliliters; intracranial volume=ICV; n.s= non significant

doi: 10.1371/journal.pone.0077914.t001

-14 14 55, $t = 3.99$), left precuneus (MNI -18 -71 24, $t = 3.6$, $k = 273$), bilateral brainstem (right, MNI 3 -24 -40; left, MNI -2 -24 -40), and WM of the left cerebellum (MNI -12 -44 -44; $k = 2976$; see Figure 1C). No differences were observed in the reverse contrasts. For further details see Table S1 and Table S2.

The regression analysis showed that high FSS scores were associated to reduced WM volumes (that is, with a significant degree of atrophy) in the left SMA (MNI -11 -20 50 $r = -.41$) see Figure 1D.

Seed-Based Rs-FC Results

We selected four regions of interest within sensorimotor brain areas that differed between the F group and controls in the VBM analyses (see Figure 2A) and we used them as seeds to perform rs-FC analyses. The functional connectivity maps obtained for each group in each seed appear in Figure 2B. Results of comparisons among groups only showed that MS patients presented decreased of rs-FC between the left PMC (MNI -47 -15 41; $t = 4.15$, $k = 961$) and left primary somatosensory cortex (MNI -42 30 27; $t = 4.22$, $k = 41$) compared to controls (see Figure 2C). No other differences among groups were observed.

Seed regression analysis within MS patients using FSS scores as a covariate of interest showed that higher FSS scores were associated with lower rs-FC between the bilateral SMA (MNI 8 -21 48) and bilateral PMC (MNI 3 -39 66 and -6 -39 66; $r = -.39$; see Figure 2D).

Results of Rs-FC Analysis of RSNs

The RSN of intrinsic connectivity was constructed using ICA, identifying 8 RSNs (illustrated Figure S1 and Table S3). Based on networks reported in previous studies [31,32,35–37], we classified 8 RSNs that are reported in the Supplementary Material. The SMN was selected as the network of interest and comprised the precentral and postcentral gyri, medial frontal gyri, SMA, PMC, thalamus, and caudate of the basal ganglia and cerebellum. Comparison of groups using ANOVA demonstrated that NF patients showed significantly greater rs-

FC of the right precentral gyrus and PMC (MNI 63 -4 19 $t = 2.87$, $k = 19$) than controls. Compared to F patients, NF also showed increased rs-FC in the left precentral gyrus, in this case associated with the premotor cortex (MNI -54 -10 22 $t = 3.77$, $k = 24$); see also Figure 3). No other differences among groups were observed.

Discussion

The purpose of the present study was to investigate the neural correlates of fatigue in people with MS. Our results indicate that F patients presented more extensive GM and WM atrophy in areas related to motor functions such as the SMA, PMC, cerebellum, and brainstem. Another important finding was that fatigue scores were also associated with rs-FC levels in the pathways connecting these brain areas involved in processing sensory and motor information. Thus, F patients displayed decreased levels of rs-FC in these pathways while NF patients displayed increased levels.

The results provided by the VBM analysis showed that F and NF patients presented GM atrophy in the SMA, but GM volume reduction also extended to the PMC as well as to the posterior part of the cingulate gyrus and cerebellum in F patients. WM atrophy was more widespread than GM atrophy, but differences between both patient subgroups were also found in the SMA and other areas of the SMN. Thus, our findings confirm the important role of atrophy at the frontoparietal SMN in the perception of fatigue. This putative relationship had already been described in previous studies [8,10,38,39] and now finds further support from the significant correlation between FSS scores and WM volume reduction in the left SMA, observed in our study. We additionally found that F patients presented a reduction of GM and WM volume in other areas involved in sensory and motor functions such as the cerebellum and brainstem.

The pathogenesis of fatigue in MS is not well understood, probably because different factors may influence this symptom [11]. Nevertheless, it seems reasonable to suggest that atrophy localized in frontoparietal sensory and frontoparietal motor

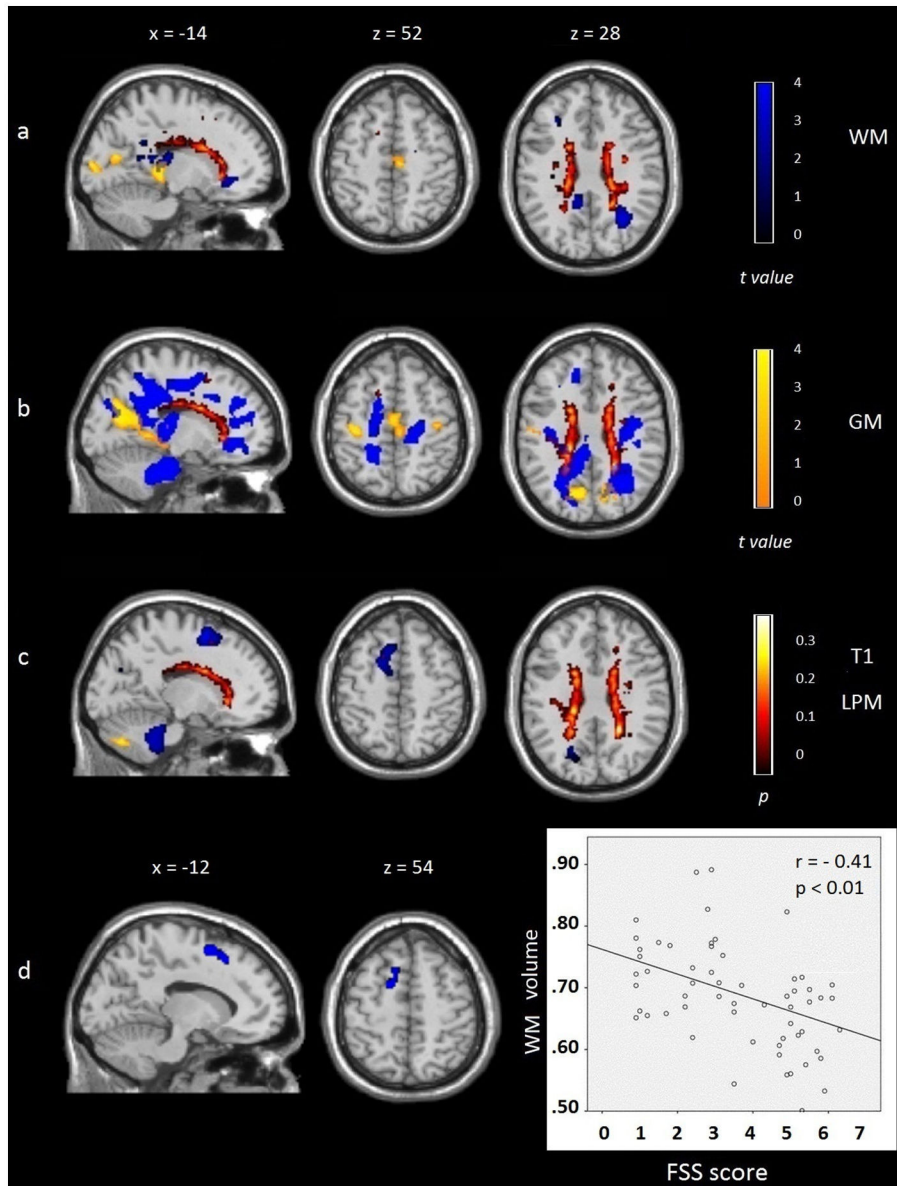


Figure 1. Overlay map of gray matter (GM; t values in yellow) and white matter (WM; t values in blue) atrophy distribution and lesion probability maps (t values in red) presented using family-wise error corrected for multiple comparisons. (Monte Carlo $p < .001$).

A) Nonfatigued patients compared to healthy controls. B) Fatigued patients compared to healthy controls. C) Fatigued patients compared to nonfatigued patients. D) Correlation between high Fatigue Severity Scale (FSS) scores and reduction of WM volume in the left supplementary motor area in all MS patients. Images are presented in neurological convention. See text for further details.

doi: 10.1371/journal.pone.0077914.g001

networks could produce retrograde degeneration of axons that results in dysfunctional connections within the SMN. We tested this hypothesis by analyzing rs-FC within four brain areas belonging to the SMN at which F patients exhibited a significant degree of atrophy. Rs-FC between the left PMC and left primary somatosensory cortex was reduced in F and NF patients compared to HCs. Further, when using FSS scores as a covariate of interest, we identified an inverse correlation

between fatigue levels and rs-FC between the bilateral SMA and bilateral PMC. The SMA and PMC are involved in processes related to the control of movement and previous studies have described in the SMA higher activity in F than in NF patients during the execution of motor tasks [40].

We extended our analysis of rs-FC to all pathways related to the SMN and not only to areas where GM atrophy was observed in F patients. Interestingly, we found that compared

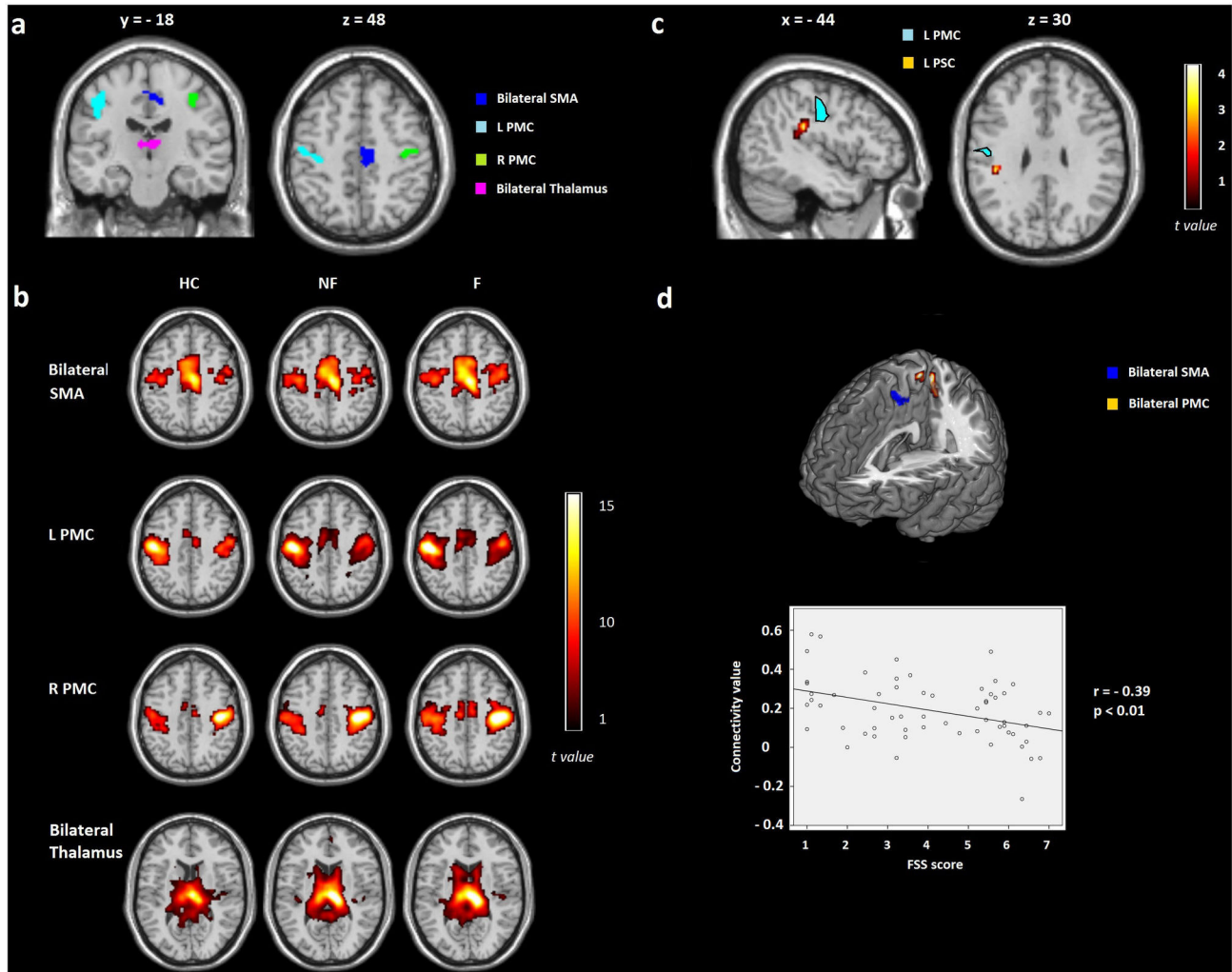


Figure 2. Results of the seed analysis presented using family-wise error corrected for multiple comparisons (Monte Carlo $p < .005$, $k = 12$). A) Regions of interest obtained from the volumetric results that were part of the sensorimotor network: bilateral supplementary motor area (SMA), left primary motor cortex (LPMC), right primary motor cortex (RPMC), and bilateral thalamus. B) Maps evoked with a seed region analysis for each group of the study: healthy controls (HC), nonfatigued patients (NF), and fatigued patients (F). C) ANOVA results of the seed analysis showing decreased connectivity between the LPMC and left primary somatosensory cortex (LPSC) in MS patients compared to HC; D) High Fatigue Severity Scale (FSS) scores associated with decreased connectivity between the bilateral SMA and bilateral PMC in all MS patients. See text for further details.

doi: 10.1371/journal.pone.0077914.g002

not only to F patients but also to HCs, NF patients showed significant increases of rs-FC between the right precentral gyrus and PMC as well as between the left precentral gyrus and premotor cortex. These data converge again with fMRI studies suggesting a relationship between MS fatigue and brain activity disturbances in different areas involved with sensorimotor functions. More specifically, Rocca et al., (2009) [16] showed that, while performing a complex motor task, MS patients with fatigue displayed decreased activation of similar areas where we observed decreased rs-FC, namely the precentral and postcentral gyri. In this way, and although we must interpret these results with caution, the increased rs-FC

observed in NF patients with respect to the other groups (particularly the HC group) may reflect a compensatory mechanism associated with subclinical fatigue.

It is important to note that previous studies have suggested that fatigue in MS patients is also related to structural abnormalities of the basal ganglia and thalamus as well as their extensive interconnections with other brain areas [12,39]. Similarly, another study [16] observed increased activation of the basal ganglia in fatigued MS patients performing a complex task. According to these precedents, we expected to find differences between F and NF patients in atrophy, and also rs-FC in the basal ganglia or thalamus as well as in the cortico-

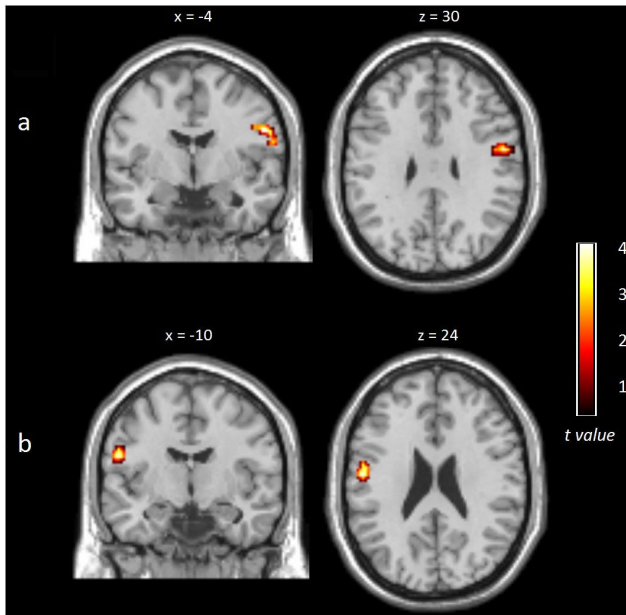


Figure 3. Results on the sensorimotor resting-state network presented using family-wise error corrected for multiple comparisons (Monte Carlo $p < .005$, $k = 12$). A) Increased synchronization in nonfatigued patients (NF) compared to healthy controls (HC) observed in the right precentral gyrus. B) Increased synchronization in NF patients compared to fatigued (F) patients observed in the left postcentral gyrus. See text for further details.

doi: 10.1371/journal.pone.0077914.g003

basal ganglia-thalamocortical loops. Although we observed more atrophy in the thalamus of F than NF patients, these differences did not reach statistical significance. Moreover, we did not observe volumetric or rs-FC differences in the basal ganglia.

There is a possible limitation in our study that might be worth considering here, which is the fact that F patients displayed higher EDSS scores than NF patients. However, we do not think that physical disability might account for the fatigue differences found between both MS patients subgroups. This conclusion is based in the fact that we did not find any correlation between FSS and EDSS scores in any of these subgroups of MS patients. Future studies should be addressed to observe a possible association between sensorimotor alterations and fatigue in a wider sample of MS with different EDSS scores.

In summary, the present results are unprecedented in showing a relationship between fatigue and rs-FC changes related to atrophy. We observed that reduced rs-FC also extended to other areas of the SMN where no differences in atrophy were observed between F and NF patients but that

might be responsible for poor integration of the sensory and motor pathways. Fatigue sensation seems to be related to decreased synchronization between the right precentral gyrus and PMC as well as between the left precentral gyrus and premotor cortex. Interestingly, enhanced rs-FC in this network was observed in MS patients reporting low levels of fatigue. This enhanced connectivity may act as a compensatory and adaptive functional change necessary to maintain “normal” vigor sensation in some MS patients.

Supporting Information

Material S1. Resting state networks (RSN) analysis.

(DOC)

Figure S1. Spatial maps of eight resting state networks (RSNs) construct using independent component analysis (ICA).

(TIFF)

Table S1. Areas showing differences in gray matter volume (GM) between groups according to fatigue.

Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.001$), $k = 132$. Abbreviations: NF non fatigued patients, F fatigued patients, HC healthy controls, R right, L left, Supplementary motor area (SMA); Primary motor cortex (PMC).

(PDF)

Table S2. Areas showing differences in white matter volume (WM) in between groups according to fatigue.

Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.001$), $k = 146$. Abbreviations: NF non fatigued patients, F fatigued patients, HC healthy controls, R right, L left; Supplementary motor area (SMA).

(PDF)

Table S3. Anatomical regions of Sensorimotor Network (SMN) identified on three groups using Independent Component Analysis (ICA).

Corrected at FWE $p < 0.05$. Abbreviations: HC = healthy controls; NF = non fatigued; F = fatigued; R = right; L = left; BA = Brodmann Area.

(PDF)

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: AJCG CF. Performed the experiments: AJCG AB CF. Analyzed the data: AJCG NVC. Contributed reagents/materials/analysis tools: AJCG NVC CF. Wrote the manuscript: AJCG CF CA. Were intensely involved in the final revision of the manuscript: AJCG NVC CF CA.

References

- Chaudhuri A, Behan PO (2004) Fatigue in neurological disorders. *Lancet* 363: 978–988. doi:10.1016/S0140-6736(04)15794-2. PubMed: 15043967.
- Lerdal A, Celius EG, Krupp L, Dahl AA (2007) A prospective study of patterns of fatigue in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 14: 1338–1343. doi:10.1111/j.1468-1331.2007.01974.x. PubMed: 17903208.
- Krupp LB (2003) Fatigue in multiple sclerosis: definition, pathophysiology and treatment. *CNS Drugs* 17: 225–234. doi:10.2165/00023210-200317040-00002. PubMed: 12665396.
- Leocani L, Colombo B, Comi G (2008) Physiopathology of fatigue in multiple sclerosis. *Neuro Sci* 29 Suppl 2: S241–S243. doi:10.1007/s10072-008-0950-1. PubMed: 18690505.
- Bakshi R, Miletich RS, Henschel K, Shaikh ZA, Janardhan V et al. (1999) Fatigue in multiple sclerosis: cross-sectional correlation with brain MRI findings in 71 patients. *Neurology* 53: 1151–1153. doi:10.1212/WNL.53.5.1151. PubMed: 10496289.
- Van der Werf SP, Jongen PJ, Lycklama à Nijeholt GJ, Barkhof F, et al. (1998) Fatigue in multiple sclerosis: interrelations between fatigue complaints, cerebral MRI abnormalities and neurological disability. *J Neurol Sci* 160: 164–170. doi:10.1016/S0022-510X(98)00251-2. PubMed: 9849800.
- Marrie RA, Fisher E, Miller DM, Lee J-C, Rudick RA (2005) Association of fatigue and brain atrophy in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 228: 161–166. doi:10.1016/j.jns.2004.11.046. PubMed: 15694198.
- Sepulcre J, Masdeu JC, Goñi J, Arrondo G, Vélaz de Mendizábal N et al. (2009) Fatigue in multiple sclerosis is associated with the disruption of frontal and parietal pathways. *Mult Scler* 15: 337–344. doi:10.1177/1352458508098373. PubMed: 18987107.
- Pellicano C, Gallo A, Li X, Ikonomidou VN, Evangelou IE et al. (2010) Relationship of cortical atrophy to fatigue in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 67: 447–453. doi:10.1001/archneurol.2010.48. PubMed: 20385911.
- Riccitelli G, Rocca MA, Forn C, Colombo B, Comi G et al. (2011) Voxelwise assessment of the regional distribution of damage in the brains of patients with multiple sclerosis and fatigue. *AJNR Am J Neuroradiol* 32: 874–879. doi:10.3174/ajnr.A2412. PubMed: 21393405.
- Induruwa I, Constantinescu CS, Gran B (2012) Fatigue in multiple sclerosis - A brief review. *J Neurol Sci* 323: 9–15. doi:10.1016/j.jns.2012.08.007. PubMed: 22935407.
- Chaudhuri A, Behan PO (2000) Fatigue and basal ganglia. *J Neurol Sci* 179: 34–42. doi:10.1016/S0022-510X(00)00411-1. PubMed: 11054483.
- Leavitt VM, DeLuca J (2010) Central fatigue: issues related to cognition, mood and behavior, and psychiatric diagnoses. *PM R* 2: 332–337. doi:10.1016/j.pmrj.2010.03.027. PubMed: 20656614.
- Andreassen K, Jakobsen J, Soerensen L, Andersen H, Petersen T, et al. (2010) Regional brain atrophy in primary fatigued patients with multiple sclerosis. *NeuroImage* 50: 608–615. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.12.118. PubMed: 20060048.
- Benwell NM, Mastaglia FL, Thibbroom GW (2007) Differential changes in long-interval intracortical inhibition and silent period duration during fatiguing hand exercise. *Exp Brain Res* 179: 255–262. doi:10.1007/s00221-006-0790-2. PubMed: 17464523.
- Rocca MA, Gatti R, Agosta F, Brogna P, Rossi P et al. (2009) Influence of task complexity during coordinated hand and foot movements in MS patients with and without fatigue. A kinematic and functional MRI study. *J Neurol* 256: 470–482. doi:10.1007/s00415-009-0116-y. PubMed: 19271107.
- Filippi M, Agosta F, Spinelli EG, Rocca MA (2012) Imaging resting state brain function in multiple sclerosis. *J Neurol*, 259: 1–5. PubMed: 22173952.
- Dogonowski A-M, Siebner HR, Soelberg Sørensen P, Paulson OB, Dyrby TB et al. (2013) Resting-state connectivity of pre-motor cortex reflects disability in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* (published online first): 6 March 2013 doi:10.1111/ane.12121. PubMed: 23461607.
- Faivre A, Rico A, Zaaroufi W, Crespy L, Reuter F et al. (2012) Assessing brain connectivity at rest is clinically relevant in early multiple sclerosis. *Mult Scler* 18: 1251–1258. doi:10.1177/1352458511435930. PubMed: 22307385.
- Roosendaal SD, Schoonheim MM, Hulst HE, Sanz-Arigita EJ, Smith SM et al. (2010) Resting state networks change in clinically isolated syndrome. *Brain* 133: 1612–1621. doi:10.1093/brain/awq058. PubMed: 20356855.
- Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA et al. (2011) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 69: 292–302. doi:10.1002/ana.22366. PubMed: 21387374.
- Kurtzke JF (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33: 1444–1452. doi:10.1212/WNL.33.11.1444. PubMed: 6685237.
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD (1989) The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 46: 1121–1123. doi:10.1001/archneur.1989.00520460115022. PubMed: 2803071.
- Ceccarelli A, Bakshi R, Neema M (2012) MRI in multiple sclerosis: a review of the current literature. *Curr Opin Neurol* 25: 402–409. doi:10.1097/WCO.0b013e328354f63f. PubMed: 22691759.
- Roosendaal SD, Moraal B, Pouwels PJW, Vrenken H, Castelijns JA et al. (2009) Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler* 15: 708–714. doi:10.1177/1352458509102907. PubMed: 19435749.
- Gelineau-Morel R, Tomassini V, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Matthews PM et al. (2012) The effect of hypointense white matter lesions on automated gray matter segmentation in multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp* 33: 2802–2814. doi:10.1002/hbm.21402. PubMed: 21976406.
- Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM (2012) FSL. *NeuroImage* 62: 782–790. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.09.015. PubMed: 21979382.
- Forman SD, Cohen JD, Fitzgerald M, Eddy WF, Mintun MA et al. (1995) Improved assessment of significant activation in functional magnetic resonance imaging (fMRI): use of a cluster-size threshold. *Magn Reson Med* 33: 636–647. doi:10.1002/mrm.1910330508. PubMed: 7596267.
- Yan C-G, Cheung B, Kelly C, Colcombe S, Craddock RC et al. (2013) A comprehensive assessment of regional variation in the impact of head micromovements on functional connectomics. *NeuroImage* 76: 183–201. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.03.004. PubMed: 23499792.
- Power JD, Barnes KA, Snyder AZ, Schlaggar BL, Petersen SE (2012) Spurious but systematic correlations in functional connectivity MRI networks arise from subject motion. *NeuroImage* 59: 2142–2154. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.10.018. PubMed: 22019881.
- Damoiseaux JS, Rombouts SARB, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ et al. (2006) Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 13848–13853. doi:10.1073/pnas.0601417103. PubMed: 16945915.
- Shehzad Z, Kelly AMC, Reiss PT, Gee DG, Gotimer K et al. (2009) The resting brain: unconstrained yet reliable. *Cereb Cortex* 19: 2209–2229. doi:10.1093/cercor/bhn256. PubMed: 19221144.
- Calhoun VD, Adali T, Pearlson GD, Pekar JJ (2001) A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Hum Brain Mapp* 14: 140–151. doi:10.1002/hbm.1048. PubMed: 11559959.
- Bell AJ, Sejnowski TJ (1995) An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural Comput* 7: 1129–1159. doi:10.1162/neco.1995.7.6.1129. PubMed: 7584893.
- Beckmann CF, DeLuca M, Devlin JT, Smith SM (2005) Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philos T Roy Soc B* 360: 1001–1013. doi:10.1098/rstb.2005.1634. PubMed: 16087444.
- Calhoun VD (2008) Does the Brain Rest?: An Independent Component Analysis of Temporally Coherent Brain Networks at Rest and During a Cognitive Task. *IEEE SSIAT*: 201–204.
- Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM et al. (2009) Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 13040–13045. doi:10.1073/pnas.0905267106. PubMed: 19620724.
- Okada T, Tanaka M, Kuratsune H, Watanabe Y, Sadato N (2004) Mechanisms underlying fatigue: a voxel-based morphometric study of chronic fatigue syndrome. *BMC Neurol* 4: 14. doi:10.1186/1471-2377-4-14. PubMed: 15461817.
- Calabrese M, Rinaldi F, Grossi P, Mattisi I, Bernardi V et al. (2010) Basal ganglia and frontal/parietal cortical atrophy is associated with fatigue in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 16: 1220–1228. doi:10.1177/1352458510376405. PubMed: 20670981.
- Filippi M, Rocca MA, Colombo B, Falini A, Codella M et al. (2002) Functional magnetic resonance imaging correlates of fatigue in multiple sclerosis. *NeuroImage* 15: 559–567. doi:10.1006/nimg.2001.1011. PubMed: 11848698.

Supplementary Material 1: Resting state networks (RSN) analysis

Preprocessing for resting state functional connectivity (rs-FC)

Rs-FC analysis was preprocessed using SPM v.8 software. Preprocessing included slice-timing correction for interleaved acquisitions using sinc interpolation and resampling with the middle (29th) slice in time as a reference point. Head motion correction, spatial normalization with resampling to 3 mm³ voxels, and spatial smoothing were performed with an isotropic Gaussian kernel of 4-mm full width at half maximum.

Additional Preprocessing for seed-based Rs-FC

We conducted additional preprocessing and rs-FC analysis using a toolkit of the Data Processing Assistant for Resting-State fMRI (DPARSF; <http://www.restfmri.net>; [1] through the following steps: 1) removing the linear trend in the time series; 2) temporally band-pass filtering (0.01–0.08 Hz) to reduce the effect of low-frequency drift and high-frequency noise (Biswal, Yetkin, Haughton, & Hyde, 1995; Lowe, Mock, & Sorenson, 1998); and 3) controlling non-neural noise in the seed region time series (Fox et al., 2005). Several sources of spurious variance were removed from the data through linear regression: six parameters obtained by rigid body correction of head motion, the global mean signal, WM signal, and cerebrospinal fluid signal.

Rs-FC Analysis of RSNs using the ICA

The minimum description length criterion was used to determine the number of ICs. Twenty iterations of ICA were performed using ICASSO to determine the reliability or stability of the ICA algorithm (Himberg, Hyvärinen, & Esposito, 2004), and the best estimate (centrotype of the cluster) for each IC was used. The individual IC maps and time courses were computed using back-reconstruction based on aggregate ICs and the results from the data reduction step (Erhardt et al., 2011). RSNs were classified by visually inspecting the aggregate spatial maps (discarding ICs associated with physiological artifacts) and average power spectra < 0.10 Hz; (Lowe et al., 1998).

We identified 8 RSNs based on networks reported in previous studies (Beckmann, DeLuca, Devlin, & Smith, 2005; Calhoun, 2008; Damoiseaux et al., 2006; Shehzad et al., 2009; S. M. Smith et al., 2009). We classified our 8 RSNs as follows: two networks

corresponding to the visual system (Grill-Spector & Malach, 2004; Lowe et al., 1998) represented by the (1) primary visual network, (2) lateral visual network (they include the inferior and superior occipital gyri, respectively); (3) the auditory network (AN), which includes the bilateral middle and superior temporal gyri, posterior insular cortex, superior temporal sulcus, and Heschl gyrus (Seifritz et al., 2002; Specht & Reul, 2003); (4) default mode network (DMN) initially reported by Raichle *et al.* (Raichle et al., 2001) and involving the posterior cingulate cortex/precuneus region, bilateral inferior parietal gyrus, middle temporal gyrus, and anterior cingulate gyrus; one network corresponding to motor and somatosensory functions (5) sensory-motor network (SMN) (Biswal et al., 1995) including the precentral and postcentral gyri, the medial frontal gyri, SMA, primary motor cortex, thalamus and caudate of the basal ganglia and cerebellum; the (6) task positive network reminiscent of the dorsal attention network (Corbetta & Shulman, 2002), and dorsolateral prefrontal cortices: the (7) left fronto-parietal network (LFPN), a left-lateralized network including the dorsolateral prefrontal cortex, ventrolateral prefrontal cortex, dorsomedial prefrontal cortex, parietal cortices, (Corbetta & Shulman, 2002; Dosenbach et al., 2007) and the (8) right fronto-parietal network (RFPN) associated with the central-executive network (Koechlin & Summerfield, 2007; Sridharan, Levitin, & Menon, 2008).

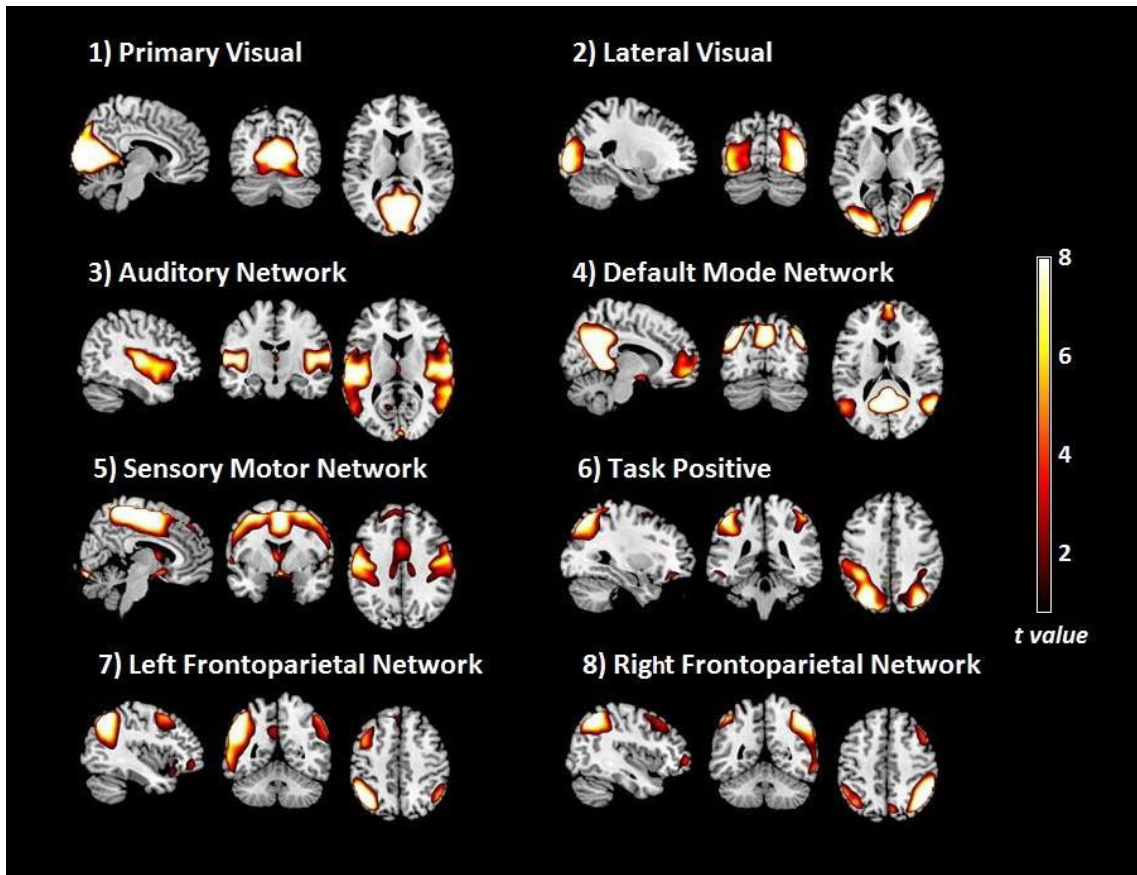
References

- 1 Chao-Gan Y, Yu-Feng Z. DPARSF: A MATLAB Toolbox for “Pipeline” Data Analysis of Resting-State fMRI. *FNSYS* 2010;4:13.
- 2 Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, et al. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med* 1995;34:537–41.
- 3 Lowe MJ, Mock BJ, Sorenson JA. Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations. *NeuroImage* 1998;7:119–32.
- 4 Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, et al. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *P Natl Acad Sci USA* 2005;102:9673–8.

- 5 Himberg J, Hyvärinen A, Esposito F. Validating the independent components of neuroimaging time series via clustering and visualization. *NeuroImage* 2004;22:1214–22.
- 6 Erhardt EB, Rachakonda S, Bedrick EJ, et al. Comparison of multi-subject ICA methods for analysis of fMRI data. *Hum Brain Mapp* 2011;32:2075–95.
- 7 Beckmann CF, DeLuca M, Devlin JT, et al. Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philos T Roy Soc B* 2005;360:1001–13.
- 8 Damoiseaux JS, Rombouts SARB, Barkhof F, et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. *P Natl Acad Sci USA* 2006;103:13848–53.
- 9 Calhoun VD. Does the Brain Rest?: An Independent Component Analysis of Temporally Coherent Brain Networks at Rest and During a Cognitive Task. *IEEE SSIAI* 2008. 201–4.
- 10 Shehzad Z, Kelly AMC, Reiss PT, et al. The resting brain: unconstrained yet reliable. *Cereb Cortex* 2009;19:2209–29.
- 11 Smith SM, Fox PT, Miller KL, et al. Correspondence of the brain’s functional architecture during activation and rest. *P Natl Acad Sci USA* 2009;106:13040–5.
- 12 Grill-Spector K, Malach R. The human visual cortex. *Annu Rev Neurosci* 2004;27:649–77.
- 13 Seifritz E, Neuhoff JG, Bilecen D, et al. Neural processing of auditory looming in the human brain. *Curr Biol* 2002;12:2147–51.
- 14 Specht K, Reul J. Functional segregation of the temporal lobes into highly differentiated subsystems for auditory perception: an auditory rapid event-related fMRI-task. *NeuroImage* 2003;20:1944–54.
- 15 Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, et al. A default mode of brain function. *P Natl Acad Sci USA* 2001;98:676–82.

- 16 Corbetta M, Shulman GL. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:201–15.
- 17 Dosenbach NUF, Fair DA, Miezin FM, et al. Distinct brain networks for adaptive and stable task control in humans. *P Natl Acad Sci USA* 2007;104:11073–8.
- 18 Koechlin E, Summerfield C. An information theoretical approach to prefrontal executive function. *Trends Cogn Sci* 2007;11:229–35.
- 19 Sridharan D, Levitin DJ, Menon V. A critical role for the right fronto-insular cortex in switching between central-executive and default-mode networks. *P Natl Acad Sci USA* 2008;105:12569–74.

Supplementary Figure 1. Spatial maps of eight resting state networks (RSNs) construct using independent component analysis (ICA).



Supplementary Table 1: Areas showing differences in gray matter volume (GM) between groups according to fatigue. Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.001$), $k = 132$. Abbreviations: NF non fatigued patients, F= fatigued patients, HC= healthy controls, R= right, L= left, SMA= Supplementary motor area, PMC= Primary motor cortex.

Regions of interest	NF vs. HC					F vs. HC				
	Cluster size	t value	MNI coordinates			Cluster size	t value	MNI coordinates		
			x	y	z			x	y	z
R Paracentral Lobe / SMA	135	3.88	9	-20	50	475	3.66	8	-21	48
L Paracentral Lobe / SMA	-	-	-	-	-		3.57	0	-11	56
R Medial Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	209	3.84	5	-26	63
	-	-	-	-	-	181	3.55	6	33	-20
L Medial Frontal Gyrus	-	-	-	-	-	158	3.68	-2	57	-9
R Middle Cingulate	-	-	-	-	-	229	3.57	9	9	38
L Precentral Gyrus/PMC	-	-	-	-	-	961	4.15	-47	-15	41
R Precentral Gyrus /PMC	-	-	-	-	-	165	3.79	45	-17	47
L Superior Temporal Gyrus	-	-	-	-	-	148	3.81	-50	-21	1
R Temporal Lobe /Fusiform Gyrus	249	4.38	45	-56	-17	156	3.83	45	-54	-17
R Middle Temporal Gyrus	138	3.58	68	-30	-11	199	3.86	62	-35	-5
L Middle Temporal Gyrus	279	4.25	-57	41	0	-	-	-	-	-
R Inferior Temporal Gyrus	332	4.07	47	-66	-5	-	-	-	-	-
L Occipital Lobe / Lingual Gyrus	135	3.40	-23	-72	-9	398	4.71	-20	-71	9
R Occipital Lobe / Lingual Gyrus	-	-	-	-	-	174	4.24	11	-77	-3
L Superior Occipital Gyrus	-	-	-	-	-	2698	4.17	-17	-71	26
L Cuneus	316	3.70	-12	-73	14		4.51	-14	-74	18
	171	4.01	-17	-93	8		-	-	-	-
L Precuneus	-	-	-	-	-		3.96	-9	-60	14
L Hippocampus	-	-	-	-	-		3.54	-18	-35	-5
L Posterior Cingulate	-	-	-	-	-		3.70	-11	-57	10
R Posterior Cingulate	-	-	-	-	-		678	4.67	15	-57
R Thalamus	1496	4.13	17	-32	-2	543	3.99	8	-14	9
L Thalamus		4.15	-20	-30	6		3.75	-8	-17	9
R Cuneus	143	3.77	20	-75	32	539	4.81	20	-75	32
R Precuneus		3.67	18	-69	33		4.18	23	-74	24

Supplementary Table 2: Areas showing differences in white matter volume (WM) in between groups according to fatigue. Results are presented at corrected multiple comparisons (Monte-Carlo, $p < 0.001$), $k = 146$. Abbreviations: NF= non fatigued patients, F= fatigued patients, HC= healthy controls, R= right, L= left, SMA= Supplementary motor area.

Regions of interest	NF vs. HC					F vs. HC				
	Cluster size	t value				Cluster size	t value			
			x	y	z			x	y	z
L Temporal Lobe WM	433	4.01	-35	-66	11	229	3.94	-44	-8	-17
L Middle Occipital Gyrus WM		3.47	-34	-73	12		3.53	-33	-72	12
R Middle Temporal Gyrus WM	-	-	-	-	-	23124	4.42	40	-59	5
R Temporal Lobe WM	-	-	-	-	-		4.74	35	-65	3
R Thalamus WM	2558	3.41	11	-27	5		4.80	9	-24	3
R Parietal Lobe / Angular Gyrus WM		3.62	35	-59	35		-	-	-	-
R Inferior Parietal Lobule WM		-	-	-	-		4.64	35	-59	36
L Precuneus WM		-	-	-	-		5.05	-23	-71	17
R Middle Temporal Gyrus WM		3.33	40	-59	6		4.17	40	-59	6
R Posterior Cingulate WM		4.30	16	-54	15		4.29	16	-54	15
R Corpus Callosum WM		3.43	10	-46	12		3.71	10	-46	12
L Posterior Cingulate WM		644	3.35	-10	-48		15	3.75	-10	-48
L Corpus Callosum WM	3.33		-9	-45	17		3.67	-10	-46	12
L Thalamus WM	997	4.56	-8	-12	17		5.72	-8	-12	17
L Parietal Lobe WM	-	-	-	-	-		3.67	-28	-57	29
L Brainstem / Pons WM	-	-	-	-	-		5622	3.49	-2	-22
R Brainstem / Pons WM	-	-	-	-	-	3.48		2	-22	-25
L Cerebellum WM	-	-	-	-	-	4.06		-21	-42	-36
R Cerebellum WM	-	-	-	-	-	3.26		14	-43	-43
R Postcentral Gyrus WM	-	-	-	-	-	4130	3.79	48	-26	35
R Precentral Gyrus WM	-	-	-	-	-		3.79	42	-8	29
R Paracentral Lobule / SMA	-	-	-	-	-		3.56	13	-28	52
R Cingulate Gyrus WM	154	3.59	14	-9	45	-	-	-	-	
R Anterior Cingulate WM	376	3.59	16	38	-5	1477	3.29	16	41	10
R Middle Frontal Gyrus WM		3.49	24	39	-7		3.55	24	39	-7
R Medial Frontal Gyrus WM		3.29	16	48	3		3.69	16	48	3
R Insula WM	-	-	-	-	-		3.36	32	23	12
R Inferior Frontal Gyrus WM	-	-	-	-	-	3.72	33	25	7	
L Inferior Frontal Gyrus WM	-	-	-	-	-	3116	3.95	-33	25	7
L Middle Frontal Gyrus WM	-	-	-	-	-		4.39	-26	45	-8
L Insula WM	-	-	-	-	-		4.44	-32	23	13
L Anterior Cingulate WM	210	3.69	-12	30	-9		4.02	-11	41	14
L Frontal Lobe WM	430	3.80	-29	32	27	-	-	-	-	
L Superior Frontal Gyrus WM	-	-	-	-	-	239	4.02	-14	41	32

Supplementary Table 3: Anatomical regions of Sensorimotor Network (SMN) identified on three groups using Independent Component Analysis (ICA). Corrected at FWE $p < 0.05$. Abbreviations: HC= healthy controls; NF= non fatigued; F= fatigued; R= right; L= left; BA = Brodmann Area.

Anatomical Localisation	HC					NF					F				
	Cluster size	t value	x	y	z	Cluster size	t value	x	y	z	Cluster size	t value	x	y	z
R Primary Motor Cortex (BA 4)	2408	14.95	15	-37	67	5458	15.95	51	-13	49	5454	14.65	36	-31	61
L Primary Motor Cortex (BA 4)		12.07	-27	-28	64		10.96	-33	-28	55		13.21	-30	-28	58
R Supplementary Motor Area (BA 6)		9.09	6	8	58		10.56	3	11	49		6.22	6	8	58
L Supplementary Motor Area (BA 6)		9.60	-3	8	49		7.86	-3	11	49		7.63	-3	11	49
R Premotor Cortex (BA 6)		16.86	18	-10	64		9.66	21	-10	64		6.16	21	-10	64
L Premotor Cortex (BA 6)		14.37	-36	-10	49		10.85	-36	-13	43		9.99	-42	-7	52
R Primary Somatosensorial Cortex, (BA 2)		11.13	51	-28	43		8.59	51	-25	43		12.56	51	-25	43
L Primary Somatosensorial Cortex, (BA 2)		8.46	-48	-34	46		9.70	-48	-34	46		7.22	-48	-34	46
R Primary Somatosensorial Cortex, (BA 3)		16.70	33	-34	67		13.91	39	-25	46		13.41	21	-37	58
L Primary Somatosensorial Cortex, (BA 3)		8.57	-24	-35	58		9.53	-24	-35	58		9.87	-24	-35	58
R Somatosensory Association Cortex, (BA 5)		15.29	27	-43	64		12.42	27	-46	64		11.88	27	-46	64
L Somatosensory Association Cortex, (BA 5)		13.83	-24	-43	67		11.18	-30	-43	64		8.38	-24	-43	67
R Parietal Lobe, Precuneus, (BA 7)		9.65	15	-46	52		9.55	12	-43	52		14.35	12	-43	52
L Parietal Lobe, Precuneus, (BA 7)		13.37	-12	-46	55		8.62	-12	-49	58		13.10	-12	-49	58
L Frontal Lobe, Paracentral Lobule, (BA 31)		9.51	3	-22	49		11.41	3	-22	49		7.49	3	-22	49
L Frontal Lobe, Paracentral Lobule, (BA 31)		14.42	-3	-22	49		10.36	-6	-22	46		7.75	-3	-22	49
R Parietal Lobe, Postcentral Gyrus, (BA40)	17.97	39	-37	61	11.96	36	-37	55	16.69	39	-31	43			
L Parietal Lobe, Postcentral Gyrus, (BA40)	8.60	-39	-34	55	9.86	-39	-40	58	11.19	-39	-31	46			

CAPITULO 3: Discusión General

Los estudios incluidos en la presente tesis pretenden contribuir a la comprensión de los sustratos neuronales responsables tanto de las alteraciones cognitivas como de la fatiga en la EM.

En el primer estudio presentado, hemos confirmado la relación de la atrofia en SG con el deterioro cognitivo de la EM, tal y como varios estudios previos han señalado. De forma novedosa, también hemos aportado evidencias acerca de la implicación de la atrofia en SB en el rendimiento cognitivo. De esta forma, mediante el análisis de morfometría basada en el vóxel, hemos demostrado la presencia de una pérdida de volumen significativa en diferentes regiones cerebrales en pacientes EM con deterioro cognitivo en comparación con sujetos control así como con pacientes EM sin deterioro cognitivo.

En este sentido, los pacientes EM con déficits cognitivos muestran un extenso grado de atrofia tanto en SG como en SB respecto a los controles en amplias regiones corticales (que implican a todos los lóbulos cerebrales, incluyendo el córtex cingulado), pero también en estructuras a nivel subcortical como el cuerpo caloso, el tálamo y los ganglios basales. La comparación entre grupos de pacientes indica como aquellos sin deterioro cognitivo no muestran atrofia en ninguna región respecto a aquellos con deterioro cognitivo. La comparación inversa, por su lado, confirma en el grupo de pacientes clasificados con deterioro cognitivo la presencia de atrofia en SG y SB, localizada en áreas corticales posteriores, en el cerebelo, y, de nuevo, en estructuras subcorticales como el tálamo y el cuerpo caloso. Todas estas regiones se han descrito previamente como especialmente sensibles a la patología de la EM y además, han demostrado tener una especial relevancia en el funcionamiento cognitivo (Houtchens y cols., 2007; Batista y cols., 2012; Llufríu y cols., 2012).

Por otra parte, con el análisis de correlación hemos confirmado la importancia de la atrofia en SG y SB en el deterioro cognitivo asociado a esta enfermedad. Concretamente, hemos hallado correlaciones significativas en el grupo de pacientes EM con deterioro cognitivo, específicamente entre la pérdida de volumen en SG y SB en diferentes regiones y las puntuaciones Z que reflejan tanto el rendimiento cognitivo global en toda la batería BRB (Z_g); como el rendimiento en tareas relacionadas con la atención, la memoria de trabajo y la velocidad del procesamiento de la información

(Za). Particularmente, esta última puntuación (Za), refleja la ejecución en los tests SDMT y PASAT. Estos hallazgos son de especial interés en tanto que estas dos tareas se han mostrado como las más sensibles en la detección del deterioro cognitivo en la EM (Portaccio y cols., 2009). De esta forma, el bajo rendimiento en estas tareas correlaciona en nuestra muestra de pacientes EM con la pérdida de volumen principalmente en el giro cingulado, el córtex frontal medial y el giro postcentral del lóbulo parietal. Estas regiones se incluyen dentro de una red fronto-parietal involucrada en tareas atencionales y de memoria de trabajo que ha sido ampliamente estudiada (Penner y cols., 2003; Sweet y cols., 2004, 2006; Wishart y cols., 2004; Au Duong y cols., 2005; Chiaravalloti y cols., 2005; Forn y cols., 2006, 2007, 2008, 2009; Amann y cols., 2011). Además, las alteraciones en esta red se han mostrado implicadas estrechamente con el deterioro cognitivo de la EM no sólo en estudios volumétricos, sino también en estudios de RMf que han empleado estas mismas tareas adaptadas al scanner (Penner y cols., 2003; Sweet y cols., 2004, 2006; Wishart y cols., 2004; Au Duong y cols., 2005; Forn y cols., 2006, 2007, 2012, 2013; Amann y cols., 2011) y en estudios de CF en estado de reposo (Roosendaal y cols., 2010; Faivre y cols., 2012).

La implicación de la pérdida de volumen en SG en las alteraciones cognitivas en la EM resulta confirmada en el análisis de regresión realizado, en el cual, la atrofia en SG constituye el predictor más fiable del rendimiento cognitivo en el grupo de pacientes, seguido por los años de escolaridad y por la atrofia en SB. Este hallazgo no es sorprendente si tenemos en cuenta la recientemente desarrollada teoría de la reserva cognitiva, que postula que algunas variables como los años de escolarización ejercen un efecto protector frente al deterioro cognitivo provocado por enfermedades neurodegenerativas (Sumowski y cols., 2009a; Benedict y cols., 2010). Estos resultados también son indicativos de una mayor implicación de la atrofia en SG respecto a la atrofia en SB en los déficits cognitivos asociados a esta enfermedad (Grassiot y cols., 2009; Filippi y cols., 2010).

Por otro lado, en cuanto al análisis de las lesiones en SB, no hemos encontrado diferencias respecto a la localización y frecuencia de éstas entre ambos grupos de pacientes. Sin embargo, sí hallamos una correlación significativa entre la distribución de las lesiones y las puntuaciones cognitivas Zg y Za (que reflejan de nuevo el rendimiento cognitivo global y el rendimiento en el PASAT y SDMT respectivamente), aunque sólo

considerando los pacientes EM en conjunto (sin distinguir si muestran deterioro cognitivo o no). Estos resultados sugieren que la localización de las lesiones en SB podría contribuir en cierta medida al deterioro cognitivo en la EM, aunque en menor medida que la atrofia cerebral (Rovaris y cols., 2006; Calabrese y cols., 2009; Kincses y cols., 2011). En este sentido, vemos como la distribución del daño en SB asociado a los déficits cognitivos (ya sea medido como lesiones o también como atrofia) afecta principalmente a tractos de SB localizados en regiones periventriculares, los lóbulos parietales y frontales, el cuerpo caloso y el tálamo. Resulta razonable pensar que el daño estructural en estos tractos podría provocar una alteración de la comunicación o una desconexión entre regiones cerebrales inter e intra-hemisféricas, así como entre regiones cortico-subcorticales, fenómeno que contribuiría a la manifestación de los déficits neuropsicológicos en estos pacientes, tal y como ha sido sugerido por diferentes autores (Rovaris y Filippi, 2000; Filippi y cols., 2012; Rossi y cols., 2012).

En relación a esta idea, en nuestro segundo trabajo hemos confirmado una asociación directa entre las alteraciones estructurales y la disminución de la conectividad funcional entre diferentes regiones cerebrales a través del estudio de la actividad cerebral espontánea en estado de reposo. Concretamente, hemos hallado una relación entre el aumento tanto de la carga lesional como de la atrofia cerebral global y la disminución de la CF entre diferentes regiones de las cuatro redes identificadas mediante el análisis de componentes independientes: la red de activación por defecto (DMN), la red fronto-parietal izquierda, la red fronto-parietal derecha y la red *salience*. Es decir, a medida que más daño estructural se acumula en estos pacientes (en forma de lesiones o de pérdida de tejido), más tiende a disminuir la conectividad entre diferentes regiones pertenecientes a estas redes. Esta relación entre el daño estructural y la alteración de CF ha sido reportada en varios trabajos previos en regiones de la DMN (Rocca y cols., 2010; Roosendaal y cols., 2010; Schoonheim y cols., 2010), pero a nuestro saber, este estudio es pionero en extender estos hallazgos a regiones incluidas en las redes fronto-parietales y en la red *salience*. Así pues, estos resultados son sugestivos de que la reorganización funcional que se manifiesta en los pacientes EM está probablemente modulada por la acumulación de daño estructural.

Además, la alteración de la conectividad entre las regiones implicadas en estas redes también está relacionada con el rendimiento cognitivo, como hemos confirmado

en este mismo estudio. Así, hemos observado cómo el grupo de pacientes con deterioro cognitivo manifiesta una disminución de la conectividad respecto al grupo control en diferentes regiones no sólo de la DMN tal y como varios estudios habían ya habían señalado (Rocca y cols., 2010; Bonavita y cols., 2011), sino también en regiones pertenecientes a otras redes implicadas en el funcionamiento cognitivo como la red fronto-parietal izquierda.

Al comparar ambos grupos de pacientes, aquellos sin deterioro cognitivo muestran un aumento de la conectividad frente al grupo de pacientes con deterioro en regiones de la DMN, de la red fronto-parietal derecha y de la red *saliency*. Aunque no encontramos este patrón en la red fronto-parietal izquierda, observamos como ambos grupos de pacientes muestran un decremento de la conectividad en la red fronto-parietal izquierda respecto a los controles, aunque únicamente aquellos pacientes que están preservados a nivel cognitivo muestran un patrón de conectividad adecuado en la red fronto-parietal derecha, lo que les permitiría mantener un buen rendimiento cognitivo. De hecho, confirmamos esta idea en el análisis de correlación, en el que observamos una relación positiva en el grupo de pacientes sin deterioro entre el rendimiento cognitivo y el aumento de la CF la red fronto-parietal derecha.

Estos hallazgos también son congruentes con otros estudios (Cader y cols., 2006; Roosendaal y cols., 2010; Loitfelder y cols., 2012; Faivre y cols., 2012; Sumowski y cols., 2013), que también han asociado en pacientes EM un adecuado rendimiento cognitivo con un aumento de la CF entre diferentes regiones. En este sentido, el incremento de CF en los pacientes EM sin deterioro cognitivo en relación a los pacientes EM con deterioro cognitivo, se ha interpretado en la mayoría de los casos como un mecanismo de adaptación funcional al daño cerebral estructural, el cual se piensa que es el responsable de compensar los déficits cognitivos en estos pacientes (Cader y cols., 2006; Roosendaal y cols., 2010; Faivre y cols., 2012; Sumowski y cols., 2013). Hallazgos similares se han encontrado en estudios de RMf con tarea, en los que se ha observado cómo un rendimiento eficiente en pacientes EM en pruebas como el PASAT o n-back, está asociado a una mayor activación en zonas parietales y frontales que también han sido generalmente interpretadas como actividades compensatorias (Audoin y cols., 2003; Forn y cols., 2006, 2007). Sin embargo, parece que estos mecanismos son de carácter temprano y limitado, ya que a medida que la enfermedad

avanza y se acumula el daño tisular, esta reorganización funcional desaparece (Filippi y cols., 2010; Roosendaal y cols., 2010; Schoonheim y cols., 2010). Los resultados de obtenidos en nuestro trabajo sobre la correlación entre la carga lesional y la atrofia global con la conectividad en las diferentes redes apoyan esta teoría. En congruencia con esta idea, nos encontramos con el hecho que los pacientes EM con deterioro cognitivo de nuestro estudio, son los que presentan un mayor volumen lesional y una mayor atrofia global, y en consecuencia, también muestran disminuciones de CF entre varias regiones respecto a los pacientes sin deterioro cognitivo.

Sin embargo, en nuestro segundo estudio no encontramos un aumento de CF en pacientes EM sin deterioro respecto a controles en ninguna de las redes exploradas, con lo cual no podemos hablar estrictamente de la manifestación de un mecanismo compensatorio. Puede que las diferencias en el tamaño de los grupos de nuestro estudio contribuyan a limitar la potencia estadística de nuestro análisis.

Aun así, este estudio contribuye al esclarecimiento de la relación entre las alteraciones funcionales y el deterioro cognitivo en la EM. De esta manera, confirmamos que las alteraciones de la conectividad entre regiones cerebrales se relacionan con la acumulación de daño estructural, y que estos dos procesos probablemente sean los responsables de la aparición y la evolución de los déficits cognitivos en esta población clínica. En este sentido, creemos conveniente el avance en la comprensión de los diferentes procesos de reorganización funcional que se dan en estos pacientes, aprovechando las ventajas que ofrece un método libre de tarea como es el “*resting state*”, y que complementa las técnicas de RM estructural convencionales y cuantitativas con el objetivo de lograr una comprensión más amplia de la fisiopatología de esta enfermedad desde las fases más tempranas.

Además, consideramos esencial que los futuros trabajos sobre las alteraciones cognitivas y los cambios de CF en esta población clínica tengan en cuenta otras redes neuronales de especial interés en esta patología como son las redes fronto-parietales, cuyo estudio todavía se encuentra en un estadio incipiente (Roosendaal y cols., 2010; Faivre y cols., 2012).

De este modo, creemos que los cambios de conectividad en las redes neuronales en estado de reposo pueden constituir una variable importante y fiable del rendimiento

cognitivo, así como de otras características clínicas relevantes en los pacientes EM, como ya se ha demostrado con la incapacidad física o con los déficits motores (Faivre y cols., 2012; Dogonowski y cols., 2013).

En relación a esto, nuestro tercer estudio fue motivado en parte por la ausencia de trabajos dirigidos a explorar una posible relación entre las alteraciones de CF en estado de reposo y la fatiga (otro de los síntomas más prevalentes e incapacitantes en esta población clínica). Más concretamente, nos planteamos la posibilidad de hallar una asociación entre alteraciones de conectividad en regiones de la red sensoriomotora y este síntoma. Además, en este mismo estudio exploramos la relación entre la fatiga y las alteraciones estructurales, de nuevo utilizando la metodología de la morfometría basada en el vóxel.

En este sentido, en el último trabajo hemos evidenciado la presencia tanto de alteraciones estructurales como funcionales en relación a la fatiga en la EM. En primer lugar, hemos encontrado que los pacientes con fatiga muestran respecto a los controles una pérdida de volumen tanto en SG como en SB en diferentes zonas involucradas en las funciones motoras y sensitivas, entre las que destacan regiones parietales y frontales (incluyendo el área motora suplementaria y el córtex premotor), el cerebelo, el tálamo y el troncoencéfalo. La comparación entre subgrupos de pacientes (con y sin fatiga), muestra que los pacientes con fatiga presentan atrofia en SG y SB principalmente en el cerebelo, en el troncoencéfalo, en el precuneus y en áreas frontales (incluyendo de nuevo áreas motoras). En el análisis de correlación además, hemos observado como la puntuación en la escala de fatiga FSS correlaciona de forma significativa con la pérdida de volumen en SB del área motora suplementaria izquierda.

Aunque las causas de la fatiga en la EM todavía no son conocidas, varios estudios han propuesto diferentes regiones cerebrales como sustrato principal de este síntoma. Así, diferentes trabajos han vinculado la fatiga en la EM con la presencia de alteraciones estructurales en regiones similares a las halladas en nuestro estudio, sobre todo en las áreas parietales y frontales (Colombo y cols., 2000; Sepulcre y cols., 2009b; Andreasen y cols., 2010; Pellicano y cols., 2010; Riccitelli y cols., 2011b). Algunos estudios también han relacionado la fatiga con alteraciones estructurales del tálamo y los ganglios basales, así como con la alteración de sus conexiones con otras áreas cerebrales (Calabrese y cols., 2010; Chaudhuri y Behan, 2000).

Igual que en el caso del deterioro cognitivo, se piensa que en la patogénesis de la fatiga, además de las alteraciones estructurales, también están implicadas alteraciones funcionales y de conectividad entre diferentes regiones. Para explorar una posible relación de las alteraciones estructurales con las alteraciones de conectividad, realizamos un análisis de CF mediante de la técnica del vóxel semilla. Esta técnica consiste en la selección de una región de interés a priori para ver en qué medida está conectada funcionalmente con todo el resto del cerebro. Concretamente, seleccionamos como semillas cuatro regiones de SG pertenecientes a la red sensoriomotora y en las cuales los pacientes EM con fatiga mostraron una atrofia significativa respecto a los controles. Los resultados de este análisis confirman en el grupo de pacientes EM con fatiga una reducción de la CF entre el córtex premotor izquierdo y el córtex somatosensorial primario izquierdo en comparación con el grupo de controles. De forma adicional, el análisis de correlación muestra como una mayor puntuación en la escala de fatiga se asocia a una disminución de la CF entre el área motora suplementaria y el córtex premotor a nivel bilateral. Estas dos regiones se han mostrado relacionadas con el control del movimiento y existen estudios que han descrito una mayor actividad del área motora suplementaria en pacientes con fatiga respecto a pacientes sin fatiga durante la realización de tareas motoras (Filippi y cols., 2002).

Para examinar la conectividad de todas las regiones de la red sensoriomotora (más allá de las regiones atrofiadas seleccionadas previamente), realizamos un análisis de componentes independientes para identificar la red completa en cada uno de los participantes en el estudio y analizar las posibles diferencias de CF entre grupos. De este modo, los pacientes EM sin fatiga muestran un aumento de la CF respecto a los pacientes con fatiga en el giro precentral izquierdo incluyendo el córtex premotor. Además, el mismo grupo de pacientes sin fatiga cuando es comparado con el grupo control, también muestra un aumento de CF en el giro precentral pero a nivel derecho, en esta ocasión incluyendo el córtex motor primario. Estos resultados son congruentes con estudios de RMf como el de Rocca y cols., (2009), donde se demostró cómo pacientes EM con fatiga muestran una disminución de la actividad cerebral durante la ejecución de una tarea motora en regiones similares a las de nuestro estudio (principalmente giro precentral y giro postcentral).

Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo mediante las diferentes técnicas de análisis de CF en estado de reposo son sugestivos de la existencia de un mecanismo de compensación respecto a la fatiga, en el que se asociaría un incremento de CF en regiones críticas implicadas en las funciones sensitivas y motoras con una menor percepción de la fatiga por parte de estos pacientes.

En definitiva, los resultados de este trabajo en relación a la fatiga van en la misma dirección que los obtenidos en los dos primeros estudios con las alteraciones cognitivas. De este modo, los hallazgos en este tercer trabajo indican una relación entre la fatiga y los cambios de CF asociados a la atrofia cerebral. Concretamente, hemos observado cómo los pacientes que no manifiestan fatiga muestran un menor grado de atrofia en SG y SB en diferentes regiones implicadas en las funciones sensitivas y motoras respecto a pacientes con fatiga. Al mismo tiempo, los pacientes sin fatiga también manifiestan un incremento de la conectividad entre regiones similares que forman parte de la red sensoriomotora. Creemos que este aumento de conectividad se trata de una reorganización funcional adaptativa, que representa un mecanismo de compensación respecto a este síntoma en pacientes EM que no manifiestan una fatiga severa.

A modo de síntesis, estos trabajos nos muestran que los déficits cognitivos y la fatiga en la EM no sólo se relacionan con la presencia de daño estructural, sino que también están asociados con una reorganización funcional entre diferentes regiones cerebrales. En este sentido, las alteraciones funcionales deben tenerse en cuenta, ya que pueden enmascarar la relación entre las alteraciones morfológicas y las diferentes variables clínicas de interés en los pacientes con EM. Por otro lado, hemos aportado evidencia a favor de que estos procesos de reorganización funcional parecen reflejar mecanismos compensatorios de adaptación tanto a los déficits cognitivos como a la fatiga, que son posibles en la medida en que el daño estructural no sobrepasa cierto umbral. Para confirmar estos resultados, creemos que en futuros estudios deberíamos utilizar técnicas de RM no convencionales de forma adicional (como el tensor de difusión o la transferencia por magnetización), para cuantificar de forma más precisa y completa el grado de alteración estructural en estos pacientes, y relacionarlo de forma más fiable tanto con la presencia de alteraciones funcionales como con variables clínicas de interés.

3.1 Conclusiones

De los trabajos presentados en esta tesis, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. Existe una relación tanto de la atrofia cerebral en SG y SB medida con VBM como de las lesiones en SB con el rendimiento cognitivo en pacientes EM, especialmente con las pruebas neuropsicológicas más sensibles al deterioro cognitivo de esta enfermedad, que valoran la velocidad del procesamiento de la información, la atención y la memoria de trabajo.
2. De estas medidas, la atrofia en SG constituye el predictor más fiable del rendimiento cognitivo en los pacientes EM.
3. Las alteraciones de conectividad funcional en los pacientes EM están relacionadas de forma positiva con el rendimiento cognitivo y de forma negativa con el grado de daño estructural.
4. El aumento de conectividad funcional en los pacientes EM sin deterioro cognitivo podría representar una reorganización funcional adaptativa que limitaría la expresión de los déficits cognitivos.
5. La atrofia en SG y SB fundamentalmente en áreas motoras frontales y parietales se relaciona con la manifestación de la fatiga en los pacientes EM.
6. El decremento de CF entre áreas pertenecientes a la red sensoriomotora se relaciona con el grado de fatiga.
7. Los pacientes EM sin fatiga muestran un aumento de CF en regiones de la red sensoriomotora en relación a los pacientes EM con fatiga, hecho que podría constituir un mecanismo compensatorio o de adaptación funcional que limitaría la manifestación de este síntoma.

CAPITULO 4: Anexos

ESCALA DE INTENSIDAD DE FATIGA- FATIGUE SEVERITY SCALE (FSS)

- 1= Muy en desacuerdo**
- 2= Un poco en desacuerdo**
- 3= En desacuerdo**
- 4= Neutral**
- 5= Un poco de acuerdo**
- 6= Moderadamente de acuerdo**
- 7= Muy de acuerdo.**

Durante la pasada semana, he notado que:

1.- Mi motivación se reduce cuando estoy fatigado	1	2	3	4	5	6	7
2.- El ejercicio me produce fatiga	1	2	3	4	5	6	7
3.- Me fatigo fácilmente	1	2	3	4	5	6	7
4.- La fatiga interfiere en mi funcionamiento físico	1	2	3	4	5	6	7
5.- La fatiga me produce con frecuencia problemas	1	2	3	4	5	6	7
6.- La fatiga me impide hacer ejercicio físico continuado.	1	2	3	4	5	6	7
7.- La fatiga interfiere en el desempeño de algunas obligaciones y responsabilidades	1	2	3	4	5	6	7
8.- La fatiga es uno de mis tres síntomas que más me incapacitan.	1	2	3	4	5	6	7
9.- La fatiga interfiere en mi trabajo, familia o vida social.	1	2	3	4	5	6	7

**INVENTARIO MULTIESCALAR DE DEPRESIÓN CHICAGO
(IMDC)**

NOMBRE Y APELLIDOS: _____

FECHA: _____

Las siguientes palabras o frases describen sentimientos o experiencias que la gente tiene. A continuación redondee el número de cada una de ellas que mejor describa sus sentimientos durante la última semana incluido el día de hoy. Redondee solo uno de los números por cada una de las palabras o frases. Intente contestar a todas las preguntas.

	EN ABSOLUTO	UN POCO	MODERADAMENTE	BASTANTE	EXTREMADAMENTE		EN ABSOLUTO	UN POCO	MODERADAMENTE	BASTANTE	EXTREMADAMENTE
1. Triste	1	2	3	4	5	26. Criticado/a	1	2	3	4	5
2. Alegre	1	2	3	4	5	27. Fatigado/a	1	2	3	4	5
3. Indigno/a	1	2	3	4	5	28. Olvidadizo/a	1	2	3	4	5
4. Fácil despertar	1	2	3	4	5	29. Capaz	1	2	3	4	5
5. Inferior	1	2	3	4	5	30. Aburrido/a	1	2	3	4	5
6. Incapaz de mantener la atención	1	2	3	4	5	31. Dificultad para dormir	1	2	3	4	5
7. Desanimado/a	1	2	3	4	5	32. Inflexible	1	2	3	4	5
8. Exhausto/a	1	2	3	4	5	33. Rechazado/a	1	2	3	4	5
9. Afligido/a	1	2	3	4	5	34. Desesperado/a	1	2	3	4	5
10. Melancólico/a	1	2	3	4	5	35. Feliz	1	2	3	4	5
11. Poco valorado/a	1	2	3	4	5	36. Débil	1	2	3	4	5
12. Infeliz	1	2	3	4	5	37. Abatido/a	1	2	3	4	5
13. Castigado/a	1	2	3	4	5	38. Olvidado/a	1	2	3	4	5
14. Cansado/a	1	2	3	4	5	39. Activo/a	1	2	3	4	5
15. Perezoso/a	1	2	3	4	5	40. Apenado/a	1	2	3	4	5
16. Poco alegre	1	2	3	4	5	41. Pesimista	1	2	3	4	5
17. Enérgico/a	1	2	3	4	5	42. Inútil	1	2	3	4	5
18. Fracasado/a	1	2	3	4	5	43. Miserable	1	2	3	4	5
19. Apagado/a	1	2	3	4	5	44. Alerta	1	2	3	4	5
20. Querido/a	1	2	3	4	5	45. Ofendido/a	1	2	3	4	5
21. Incapaz de concentrarme	1	2	3	4	5	46. Desinteresado por el sexo	1	2	3	4	5
22. Poco apetito	1	2	3	4	5	47. No deseado/a	1	2	3	4	5
23. Despreciado/a	1	2	3	4	5	48. Pacífico/a	1	2	3	4	5
24. Odiado/a	1	2	3	4	5	49. Inquieto/a	1	2	3	4	5
25. Sueño irregular	1	2	3	4	5	50. Abandonado/a	1	2	3	4	5

Bibliografia

A

Ackerman, K. D., Heyman, R., Rabin, B. S., Anderson, B. P., Houck, P. R., Frank, E., and Baum, A. (2000). Stressful life events precede exacerbations of multiple sclerosis. *Psychosomatic medicine*, 64(6), 916–920.

Alroughani, R., Al Hashel, J., Lamdhade, S., and Ahmed, S. F. (2012). Predictors of Conversion to Multiple Sclerosis in Patients with Clinical Isolated Syndrome Using the 2010 Revised McDonald Criteria. *ISRN neurology*, 792192.

Amann, M., Dössegger, L. S., Penner, I.-K., Hirsch, J. G., Raselli, C., Calabrese, P., et al. (2011). Altered functional adaptation to attention and working memory tasks with increasing complexity in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Human brain mapping*, 32(10), 1704–1719.

Amato, M. P., Ponziani, G., Rossi, F., Liedl, C. L., Stefanile, C., and Rossi, L. (2001a). Quality of life in multiple sclerosis: the impact of depression, fatigue and disability. *Multiple Sclerosis*, 7(5), 340–344.

Amato, M. P., Ponziani, G., Siracusa, G., and Sorbi, S. (2001b). Cognitive dysfunction in early-onset multiple sclerosis: a reappraisal after 10 years. *Archives of neurology*, 58(10), 1602–1606.

Amato, M. P., Zipoli, V., Goretti, B., Portaccio, E., De Caro, M. F., Ricchiuti, L., et al. (2006). Benign multiple sclerosis: cognitive, psychological and social aspects in a clinical cohort. *Journal of neurology*, 253(8), 1054–1059.

Amato, M. P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Battaglini, M., Bartolozzi, M. L., et al. (2007). Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 64(8), 1157–1161.

Amato, M. P., Zipoli, V., and Portaccio, E. (2008). Cognitive changes in multiple sclerosis. *Expert review of neurotherapeutics*, 8(10), 1585–1596.

Andreasen, A. K., Jakobsen, J., Soerensen, L., Andersen, H., Petersen, T., Bjarkam, C. R., et al. (2010). Regional brain atrophy in primary fatigued patients with multiple sclerosis. *NeuroImage*, 50(2), 608–615.

Antulov, R., Weinstock-Guttman, B., Cox, J. L., Hussein, S., Durfee, J., Caiola, C., et al. (2009). Gender-related differences in MS: a study of conventional and nonconventional MRI measures. *Multiple sclerosis*, 15(3), 345–354.

Archibald, C. J., and Fisk, J. D. (2000). Information processing efficiency in patients with multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 22(5), 686–701.

Archibald, C. J., Wei, X., Scott, J. N., Wallace, C. J., Zhang, Y., Metz, L. M., et al. (2004). Posterior fossa lesion volume and slowed information processing in multiple sclerosis. *Brain*, 127(Pt 7), 1526–1534.

Arnett, P. A., Rao, S. M., Bernardin, L., Grafman, J., Yetkin, F. Z., and Lobeck, L. (1994). Relationship between frontal lobe lesions and Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with multiple sclerosis. *Neurology*, 44(3 Pt 1), 420–425.

Arnett, P. A., Higginson, C. I., Voss, W. D., Wright, B., Bender, W. I., Wurst, J. M., and Tippin, J. M. (1999). Depressed mood in multiple sclerosis: relationship to capacity-demanding memory and attentional functioning. *Neuropsychology*, 13(3), 434–446.

Arnett, P. A., Higginson, C. I., and Randolph, J. J. (2001). Depression in multiple sclerosis: relationship to planning ability. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 7(6), 665–674.

Arnett, P. A. (2005). Longitudinal consistency of the relationship between depression symptoms and cognitive functioning in multiple sclerosis. *CNS spectrums*, 10(5), 372–382.

Arnett, P. A., Barwick, F. H., and Beeney, J. E. (2008). Depression in multiple sclerosis: review and theoretical proposal. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 14(5), 691–724.

Assaf, M., Jagannathan, K., Calhoun, V. D., Miller, L., Stevens, M. C., Sahl, R., et al. (2010). Abnormal functional connectivity of default mode sub-networks in autism spectrum disorder patients. *NeuroImage*, 53(1), 247–526.

Au Duong, M. V., Boulanouar, K., Audoin, B., Treseras, S., Ibarrola, D., Malikova, I., et al. (2005). Modulation of effective connectivity inside the working memory network in patients at the earliest stage of multiple sclerosis. *NeuroImage*, 24(2), 533–538.

Audoin, B., Ibarrola, D., Ranjeva, J.-P., Confort-Gouny, S., Malikova, I., Ali-Chérif, A., et al. (2003). Compensatory cortical activation observed by fMRI during a cognitive task at the earliest stage of MS. *Human brain mapping*, 20(2), 51–58.

Audoin, B., Au Duong, M. V., Ranjeva, J. P., Ibarrola, D., Malikova, I., Confort-Gouny, S., et al. (2005). Magnetic resonance study of the influence of tissue damage and cortical reorganization on PASAT performance at the earliest stage of multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 24(3), 216–228.

Audoin, B., Davies, G. R., Finisku, L., Chard, D. T., Thompson, A. J., and Miller, D. H. (2006). Localization of grey matter atrophy in early RRMS: A longitudinal study. *Journal of neurology*, 253(11), 1495–1501.

Aymerich, M., Guillamón, I., Perkal, H., Nos, C., Porcel, J., Berra, S., et al. (2006). Adaptación al español del cuestionario específico MSQOL-54 para pacientes con esclerosis múltiple [Spanish adaptation of the disease-specific questionnaire MSQOL-54 in multiple sclerosis patients]. *Neurología (Barcelona, Spain)*, 21(4), 181–187.

B

Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science (New York, N.Y.)*, 255(5044), 556–559.

Bakshi, R., Miletich, R. S., Henschel, K., Shaikh, Z. A., Janardhan, V., Wasay, M., et al. (1999). Fatigue in multiple sclerosis: cross-sectional correlation with brain MRI findings in 71 patients. *Neurology*, 53(5), 1151–1153.

Bakshi, R., Shaikh, Z. A., Miletich, R. S., Czarnecki, D., Dmochowski, J., Henschel, K., et al. (2000). Fatigue in multiple sclerosis and its relationship to depression and neurologic disability. *Multiple sclerosis*, 6(3), 181–185.

Baranzini, S. E. (2011). Revealing the genetic basis of multiple sclerosis: are we there yet? *Current opinion in genetics and development*, 21(3), 317–324.

Basso, M. R., Shields, I. S., Lowery, N., Ghormley, C., Combs, D., Arnett, P. A., et al. (2008). Self-reported executive dysfunction, neuropsychological impairment, and functional outcomes in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 30(8), 920–930.

Batista, S., Zivadinov, R., Hoogs, M., Bergsland, N., Heininen-Brown, M., Dwyer, M. G., et al. (2012). Basal ganglia, thalamus and neocortical atrophy predicting slowed cognitive processing in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 259(1), 139–146.

Beatty, W. W., and Monson, N. (1991). Metamemory in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 13(2), 309–327.

Beatty, W. W., and Monson, N. (1996). Problem solving by patients with multiple sclerosis: comparison of performance on the Wisconsin and California Card Sorting Tests. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 2(2), 134–140.

Beatty, W. W., and Aupperle, R. L. (2002). Sex differences in cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist*, 16(4), 472–480.

Beatty, W. W., Goretti, B., Siracusa, G., Zipoli, V., Portaccio, E., and Amato, M. P. (2003). Changes in neuropsychological test performance over the workday in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist*, 17(4), 551–560.

Benedict, R. H., Fischer, J. S., Archibald, C. J., Arnett, P. A., Beatty, W. W., Bobholz, J., et al. (2002). Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *The Clinical neuropsychologist*, 16(3), 381–397.

Benedict, R. H., Weinstock-Guttman, B., Fishman, I., Sharma, J., Tjoa, C. W., and Bakshi, R. (2004). Prediction of neuropsychological impairment in multiple sclerosis: comparison of conventional magnetic resonance imaging measures of atrophy and lesion burden. *Archives of neurology*, 61(2), 226–230.

Benedict, R. H., Cookfair, D., Gavett, R., Gunther, M., Munschauer, F., Garg, N., et al. (2006a). Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS). *Journal of the International Neuropsychological Society*, 12(4), 549–558.

Benedict, R. H., Bruce, J. M., Dwyer, M. G., Abdelrahman, N., Hussein, S., Weinstock-Guttman, B., et al. (2006b). Neocortical atrophy, third ventricular width, and cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 63(9), 1301–1306.

Benedict, R. H., Morrow, S. A., Weinstock Guttman, B., Cookfair, D., and Schretlen, D. J. (2010). Cognitive reserve moderates decline in information processing speed in multiple sclerosis patients. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 16(5), 829–835.

Benito-León, J., Morales, J. M., and Rivera-Navarro, J. (2002). Health-related quality of life and its relationship to cognitive and emotional functioning in multiple sclerosis patients. *European Journal of Neurology*, 9(5), 497–502.

Bergendal, G., Fredrikson, S., and Almkvist, O. (2007). Selective decline in information processing in subgroups of multiple sclerosis: an 8-year longitudinal study. *European neurology*, 57(4), 193–202.

Bobholz, J. A., and Rao, S. M. (2003). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review of recent developments. *Current opinion in neurology*, 16(3), 283–288.

Bodini, B., Cercignani, M., Khaleeli, Z., Miller, D. H., Ron, M., Penny, S., et al. (2012). Corpus callosum damage predicts disability progression and cognitive dysfunction in primary-progressive MS after five years. *Human brain mapping*, 34(5), 1163–1172.

Bonavita, S., Gallo, A., Sacco, R., Corte, M. Della, Biseco, A., Docimo, R., et al. (2011). Distributed changes in default-mode resting-state connectivity in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 17(4), 411–422.

Bonzano, L., Pardini, M., Mancardi, G. L., Pizzorno, M., and Roccatagliata, L. (2009). Structural connectivity influences brain activation during PVSAT in Multiple Sclerosis. *NeuroImage*, 44(1), 9–15.

Brettschneider, J., Tumani, H., Kiechle, U., Mücke, R., Richards, G., Lehmsiek, V., et al. (2009). IgG antibodies against measles, rubella, and varicella zoster virus predict conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndrome. *PloS one*, 4(11), e7638.

Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., and Schacter, D. L. (2008). The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124, 1–38.

Bulbena, A., Berrios, G. E., and Fernández de Larrinoa, P. (2000). *Medición Clínica en Psiquiatría y Psicología*. Madrid: Masson.

C

Cader, S., Cifelli, A., Abu-Omar, Y., Palace, J., and Matthews, P. M. (2006). Reduced brain functional reserve and altered functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *Brain*, 129(Pt 2), 527–537.

Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., et al. (2009). Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 66(9), 1144–1150.

Calabrese, M., Rinaldi, F., Grossi, P., Mattisi, I., Bernardi, V., Favaretto, A., et al. (2010). Basal ganglia and frontal/parietal cortical atrophy is associated with fatigue in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 16(10), 1220–1228.

Calabrese, M., Rinaldi, F., Mattisi, I., Bernardi, V., Favaretto, A., Perini, P., et al. (2011). The predictive value of gray matter atrophy in clinically isolated syndromes. *Neurology*, 77(3), 257–263.

Calabrese, P. (2006). Neuropsychology of multiple sclerosis--an overview. *Journal of neurology*, 253 Suppl , I10–15

Chang, C. H., Nyenhuis, D. L., Cella, D., Luchetta, T., Dineen, K., and Reder, A. T. (2003). Psychometric evaluation of the Chicago Multiscale Depression Inventory in multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis*, 9(2), 160–170.

Charcot, J. M. (1877). *Lectures on the Diseases of the Nervous System: Delivered at La Salpêtrière, Volumen 1* (New Sydenh.).

Chaudhuri, A., and Behan, P. O. (2000). Fatigue and basal ganglia. *Journal of the neurological sciences*, 179(S 1-2), 34–42.

Chiaravalloti, N. D., Christodoulou, C., Demaree, H. A., and DeLuca, J. (2003). Differentiating simple versus complex processing speed: influence on new learning and memory performance. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 25(4), 489–501.

Chiaravalloti, N. D., Hillary, F., Ricker, J., Christodoulou, C., Kalnin, A., Liu, W.-C., et al. (2005). Cerebral activation patterns during working memory performance in multiple sclerosis using fMRI. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 27(1), 33–54.

Chiaravalloti, N. D., and DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet neurology*, 7(12), 1139–1151.

Christodoulou, C., Krupp, L. B., Liang, Z., Huang, W., Melville, P., Roque, C., et al. (2003). Cognitive performance and MR markers of cerebral injury in cognitively impaired MS patients. *Neurology*, 60(11), 1793–1798.

Christodoulou, C., Melville, P., Scherl, W. F., Morgan, T., MacAllister, W. S., Canfora, D. M., et al. (2005). Perceived cognitive dysfunction and observed neuropsychological performance: longitudinal relation in persons with multiple sclerosis. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 11(5), 614–649.

Colombo, B., Martinelli Boneschi, F., Rossi, P., Rovaris, M., Maderna, L., Filippi, M., and Comi, G. (2000). MRI and motor evoked potential findings in nondisabled multiple sclerosis patients with and without symptoms of fatigue. *Journal of neurology*, 247(7), 506–509.

Comi, G., Leocani, L., Rossi, P., and Colombo, B. (2001). Physiopathology and treatment of fatigue in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 248(3), 174–179.

Compston, A., and Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet*, 372(9648), 1502–1517.

D

Dalton, C. M., Brex, P. A., Jenkins, R., Fox, N. C., Miszkiel, K. A., Crum, W. R., et al. (2002). Progressive ventricular enlargement in patients with clinically isolated syndromes is associated with the early development of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 73(2), 141–147.

De Sonneville, L. M. J., Boringa, J. B., Reuling, I. E. W., Lazeron, R. H. C., Adèr, H. J., and Polman, C. H. (2002). Information processing characteristics in subtypes of multiple sclerosis. *Neuropsychologia*, 40(11), 1751–1765.

Deloire, M. S. A., Bonnet, M. C., Salort, E., Arimone, Y., Boudineau, M., Petry, K. G., et al. (2006). How to detect cognitive dysfunction at early stages of multiple sclerosis? *Multiple sclerosis*, 12(4), 445–452.

DeLuca, J., Barbieri-Berger, S., and Johnson, S. K. (1994). The nature of memory impairments in multiple sclerosis: acquisition versus retrieval. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 16(2), 183–189.

DeLuca, J., Gaudino, E. A., Diamond, B. J., Christodoulou, C., and Engel, R. A. (1998). Acquisition and storage deficits in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 20(3), 376–390.

DeLuca, J., Chelune, G. J., Tulskey, D. S., Lengenfelder, J., and Chiaravalloti, N. D. (2004). Is speed of processing or working memory the primary information processing deficit in multiple sclerosis? *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 26(4), 550–562.

Demaree, H. A., DeLuca, J., Gaudino, E. a, and Diamond, B. J. (1999). Speed of information processing as a key deficit in multiple sclerosis: implications for rehabilitation. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 67(5), 661–663.

Denney, D. R., Sworowski, L. A., and Lynch, S. G. (2005). Cognitive impairment in three subtypes of multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 20(8), 967–981.

Diamond, B. J., Johnson, S. K., Kaufman, M., and Graves, L. (2008). Relationships between information processing, depression, fatigue and cognition in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 23(2), 189–199.

Dineen, R. A., Vilisaar, J., Hlinka, J., Bradshaw, C. M., Morgan, P. S., Constantinescu, C. S., et al. (2009). Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain*, 132(Pt 1), 239–249.

Dobson, R., Ramagopalan, S., and Giovannoni, G. (2012). The effect of gender in clinically isolated syndrome (CIS): a meta-analysis. *Multiple sclerosis*, 18(5), 600–604.

Dogonowski, A. M., Siebner, H. R., Soelberg Sørensen, P., Paulson, O. B., Dyrby, T. B., Blinkenberg, M., et al. (2013). Resting-state connectivity of pre-motor cortex reflects disability in multiple sclerosis. *Acta neurologica Scandinavica* (in press).

Drew, M., Tippett, L. J., Starkey, N. J., and Isler, R. B. (2008). Executive dysfunction and cognitive impairment in a large community-based sample with Multiple Sclerosis from New Zealand: a descriptive study. *Archives of clinical neuropsychology*, 23(1), 1–19.

Drew, M. A., Starkey, N. J., and Isler, R. B. (2009). Examining the link between information processing speed and executive functioning in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 24(1), 47–58.

Dujardin, K., Donze, A. C., and Hautecoeur, P. (1998). Attention impairment in recently diagnosed multiple sclerosis. *European Journal of Neurology*, 5(1), 61–66.

Duque, B., Sepulcre, J., Bejarano, B., Samaranch, L., Pastor, P., and Villoslada, P. (2008). Memory decline evolves independently of disease activity in MS. *Multiple sclerosis*, 14(7), 947–953.

F

Faivre, A., Rico, A., Zaaoui, W., Crespy, L., Reuter, F., Wybrecht, D., et al. (2012). Assessing brain connectivity at rest is clinically relevant in early multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 18(9), 1251–1258.

Feinstein, A. (2004). The neuropsychiatry of multiple sclerosis. *Canadian journal of psychiatry*, 49(3), 157–163.

Feuillet, L., Reuter, F., Audoin, B., Malikova, I., Barrau, K., Cherif, A. A., et al. (2007). Early cognitive impairment in patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 13(1), 124–127.

Filippi, M., Rocca, M. A., Colombo, B., Falini, A., Codella, M., Scotti, G., et al. (2002). Functional magnetic resonance imaging correlates of fatigue in multiple sclerosis. *NeuroImage*, 15(3), 559–567.

Filippi, M., and Rocca, M. A. (2010). MRI and cognition in multiple sclerosis. *Neurological sciences*, 31(Suppl 2), S231–234.

Filippi, M., Rocca, M. A., Benedict, R. H., DeLuca, J., Geurts, J. J., Rombouts, S. A., et al. (2010). The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 75(23), 2121–2128.

Filippi, M., Rocca, M. A., Barkhof, F., Brück, W., Chen, J. T., Comi, G., et al. (2012). Association between pathological and MRI findings in multiple sclerosis. *Lancet neurology*, 11(4), 349–360.

Foong, J., Rozewicz, L., Quaghebeur, G., Davie, C. A., Kartsounis, L. D., Thompson, A. J., et al. (1997). Executive function in multiple sclerosis. The role of frontal lobe pathology. *Brain*, 120 (Pt 1), 15–26.

Forn, C., Barrós-Loscertales, A., Escudero, J., Belloch, V., Campos, S., Parcet, M. A., et al. (2006). Cortical reorganization during PASAT task in MS patients with preserved working memory functions. *NeuroImage*, 31(2), 686–691.

Forn, C., Barrós-Loscertales, A., Escudero, J., Benlloch, V., Campos, S., Parcet, M. A., et al. (2007). Compensatory activations in patients with multiple sclerosis during preserved performance on the auditory N-back task. *Human brain mapping*, 28(5), 424–430.

Forn, C., Ventura-Campos, N., Belenguer, A., Belloch, V., Parcet, M. A., and Avila, C. (2008). A comparison of brain activation patterns during covert and overt paced auditory serial addition test tasks. *Human brain mapping*, 29(6), 644–650.

Forn, C., Belloch, V., Bustamante, J. C., Garbin, G., Parcet-Ibars, M. A., Sanjuán, A., et al. (2009). A symbol digit modalities test version suitable for functional MRI studies. *Neuroscience letters*, 456(1), 11–14.

Forn, C., Rocca, M. A., Valsasina, P., Boscá, I., Casanova, B., Sanjuán, A., et al. (2012). Functional magnetic resonance imaging correlates of cognitive performance in

patients with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis at presentation: an activation and connectivity study. *Multiple sclerosis*, 18(2), 153–163.

Forn, C., Rocca, M. A., Boscá, I., Casanova, B., Sanjuán, A., and Filippi, M. (2013). Analysis of “task-positive” and “task-negative” functional networks during the performance of the Symbol Digit Modalities Test in patients at presentation with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Experimental brain research*, 225(3), 399–407.

Fox, M. D., and Greicius, M. (2010). Clinical applications of resting state functional connectivity. *Frontiers in systems neuroscience*, 4: 19.

Fox, M. D., Snyder, A. Z., Vincent, J. L., Corbetta, M., Van Essen, D. C., and Raichle, M. E. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(27), 9673–9678.

Friston, K. J., Frith, C. D., Liddle, P. F., and Frackowiak, R. S. (1993). Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 13(1), 5–14.

G

Gadea, M., Martínez-Bisbal, M. C., Marti-Bonmatí, L., Espert, R., Casanova, B., Coret, F., et al. (2004). Spectroscopic axonal damage of the right locus coeruleus relates to selective attention impairment in early stage relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain*, 127(Pt 1), 89–98.

Gaudino, E. A., Chiaravalloti, N. D., DeLuca, J., and Diamond, B. J. (2001). A comparison of memory performance in relapsing-remitting, primary progressive and secondary progressive, multiple sclerosis. *Neuropsychiatry, neuropsychology, and behavioral neurology*, 14(1), 32–44.

Ghaffar, O., and Feinstein, A. (2007). The neuropsychiatry of multiple sclerosis: a review of recent developments. *Current opinion in psychiatry*, 20(3), 278–285.

Gilchrist, A. C., and Creed, F. H. (1994). Depression, cognitive impairment and social stress in multiple sclerosis. *Journal of psychosomatic research*, 38(3), 193–201.

Glanz, B. I., Holland, C. M., Gauthier, S. A., Amunwa, E. L., Liptak, Z., Houtchens, M. K., et al. (2007). Cognitive dysfunction in patients with clinically isolated syndromes or newly diagnosed multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*, 13(8), 1004–1010.

Goverover, Y., Genova, H. M., Hillary, F. G., and DeLuca, J. (2007). The relationship between neuropsychological measures and the Timed Instrumental Activities of Daily Living task in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 13(5), 636–644.

Grafman, J., Rao, S., Bernardin, L., and Leo, G. J. (1991). Automatic memory processes in patients with multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 48(10), 1072–1075.

Grassiot, B., Desgranges, B., Eustache, F., and Defer, G. (2009). Quantification and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis: a review. *Journal of neurology*, 256(9), 1397–1412.

Greicius, M. D., and Menon, V. (2004). Default-mode activity during a passive sensory task: uncoupled from deactivation but impacting activation. *Journal of cognitive neuroscience*, 16(9), 1484–1492.

Greicius, M. D., Srivastava, G., Reiss, A. L., and Menon, V. (2004). Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(13), 4637–4642.

Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis (2005). *Multiple sclerosis*, 11(3), 328–337.

H

Hawellek, D. J., Hipp, J. F., Lewis, C. M., Corbetta, M., and Engel, A. K. (2011). Increased functional connectivity indicates the severity of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(47), 19066–19071.

Henry, R. G., Shieh, M., Okuda, D. T., Evangelista, A., Gorno-Tempini, M. L., and Pelletier, D. (2008). Regional grey matter atrophy in clinically isolated syndromes at presentation. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 79(11), 1236–1244.

Hoogervorst, E. L., van Winsen, L. M., Eikelenboom, M. J., Kalkers, N. F., Uitdehaag, B. M., and Polman, C. H. (2001). Comparisons of patient self-report, neurologic examination, and functional impairment in MS. *Neurology*, 56(7), 934–937.

Houtchens, M. K., Benedict, R. H., Killiany, R., Sharma, J., Jaisani, Z., Singh, B., et al. (2007). Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology*, 69(12), 1213–1223.

Huijbregts, S. C., Kalkers, N. F., de Sonnevile, L. M., de Groot, V., Reuling, I. E., and Polman, C. H. (2004). Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS. *Neurology*, 63(2), 335–339.

I

Induruwa, I., Constantinescu, C. S., and Gran, B. (2012). Fatigue in multiple sclerosis - A brief review. *Journal of the neurological sciences*, 323(1-2), 9-15.

Iriarte, J., Subirá, M. L., and Castro, P. (2000). Modalities of fatigue in multiple sclerosis: correlation with clinical and biological factors. *Multiple Sclerosis*, 6(2), 124–130.

Izquierdo, G., and Ruiz-Peña, J. L. (2003). Evaluación clínica de la esclerosis múltiple: cuantificación mediante la utilización de escalas [Clinical evaluation of multiple sclerosis: quantification by use of scales]. *Revista de neurologia*, 36(2), 145–152.

J

Jansen, D. A., and Cimprich, B. (1994). Attentional impairment in persons with multiple sclerosis. *The Journal of neuroscience nursing*, 26(2), 95–102.

Johnson, S. K., Lange, G., DeLuca, J., Korn, L. R., and Natelson, B. (1997). The effects of fatigue on neuropsychological performance in patients with chronic fatigue syndrome, multiple sclerosis, and depression. *Applied neuropsychology*, 4(3), 145–153.

K

Kenealy, P. M., Beaumont, G. J., Lintern, T., and Murrell, R. (2000). Autobiographical memory, depression and quality of life in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 22(1), 125–131.

Kincses, Z. T., Ropele, S., Jenkinson, M., Khalil, M., Petrovic, K., Loitfelder, M., et al. (2011). Lesion probability mapping to explain clinical deficits and cognitive performance in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 17(6), 681–689.

Kleeberg, J., Bruggimann, L., Annoni, J. M., van Melle, G., Bogousslavsky, J., and Schlupe, M. (2004). Altered decision-making in multiple sclerosis: a sign of impaired emotional reactivity? *Annals of neurology*, 56(6), 787–795.

Klonoff, H., Clark, C., Oger, J., Paty, D., and Li, D. (1991). Neuropsychological performance in patients with mild multiple sclerosis. *The Journal of nervous and mental disease*, 179(3), 127–131.

Krupp, L. B., LaRocca, N. G., Muir-Nash, J., and Steinberg, A. D. (1989). The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Archives of neurology*, 46(10), 1121–1123.

Krupp, L. B., and Elkins, L. E. (2000). Fatigue and declines in cognitive functioning in multiple sclerosis. *Neurology*, 55(7), 934–939.

Krupp, L. B. (2003). Fatigue in multiple sclerosis: definition, pathophysiology and treatment. *CNS drugs*, 17(4), 225–234.

Kujala, P., Portin, R., and Ruutiainen, J. (1997). The progress of cognitive decline in multiple sclerosis. A controlled 3-year follow-up. *Brain*, 120 (Pt 2), 289–97.

Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444–1452.

L

Lazeron, R. H. C., Boringa, J. B., Schouten, M., Uitdehaag, B. M. J., Bergers, E., Lindeboom, J., et al. (2005). Brain atrophy and lesion load as explaining parameters for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 11(5), 524–531.

Leavitt, V. M., and DeLuca, J. (2010). Central fatigue: issues related to cognition, mood and behavior, and psychiatric diagnoses. *PM and R*, 2(5), 332–327.

Lengenfelder, J., Bryant, D., Diamond, B. J., Kalmar, J. H., Moore, N. B., and DeLuca, J. (2006). Processing speed interacts with working memory efficiency in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 21(3), 229–238.

Leocani, L., Colombo, B., and Comi, G. (2008). Physiopathology of fatigue in multiple sclerosis. *Neurological sciences*, 29 Suppl 2, S241–243.

Lerdal, A., Celius, E. G., Krupp, L., and Dahl, A. A. (2007). A prospective study of patterns of fatigue in multiple sclerosis. *European journal of neurology*, 14(12), 1338–1343.

Lin, X., Tench, C. R., Morgan, P. S., Niepel, G., and Constantinescu, C. S. (2005). “Importance sampling” in MS: use of diffusion tensor tractography to quantify pathology related to specific impairment. *Journal of the neurological sciences*, 237(1-2), 13–19.

Llufriu, S., Blanco, Y., Martinez-Heras, E., Casanova-Molla, J., Gabilondo, I., Sepulveda, M., et al. (2012). Influence of corpus callosum damage on cognition and physical disability in multiple sclerosis: a multimodal study. *PloS one*, 7(5), e37167.

Loitfelder, M., Filippi, M., Rocca, M., Valsasina, P., Ropele, S., Jehna, M., et al. (2012). Abnormalities of resting state functional connectivity are related to sustained attention deficits in MS. *PloS one*, 7(8), e42862.

M

Maor, Y., Olmer, L., and Mozes, B. (2001). The relation between objective and subjective impairment in cognitive function among multiple sclerosis patients - the role of depression. *Multiple Sclerosis*, 7(2), 131–135.

Marrie, R. A., Fisher, E., Miller, D. M., Lee, J. C., and Rudick, R. A. (2005). Association of fatigue and brain atrophy in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, 228(2), 161–166.

- Mathiesen, H. K., Jonsson, A., Tscherning, T., Hanson, L. G., Andresen, J., Blinkenberg, M., et al. (2006). Correlation of global N-acetyl aspartate with cognitive impairment in multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 63(4), 533–536.
- Maurelli, M., Marchioni, E., Cerretano, R., Bosone, D., Bergamaschi, R., Citterio, A., et al. (1992). Neuropsychological assessment in MS: clinical, neurophysiological and neuroradiological relationships. *Acta Neurologica Scandinavica*, 86(2), 124–128.
- McCarthy, M., Beaumont, J. G., Thompson, R., and Peacock, S. (2005). Modality-specific aspects of sustained and divided attentional performance in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 20(6), 705–718.
- Mesaros, S., Rocca, M. A., Riccitelli, G., Pagani, E., Rovaris, M., Caputo, D., et al. (2009). Corpus callosum damage and cognitive dysfunction in benign MS. *Human brain mapping*, 30(8), 2656–2666.
- Middleton, L. S., Denney, D. R., Lynch, S. G., and Parmenter, B. (2006). The relationship between perceived and objective cognitive functioning in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology*, 21(5), 487–494.
- Miller, D. H., Barkhof, F., Montalban, X., Thompson, A., and Filippi, M. (2005). Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *Lancet neurology*, 4(5), 281–288.
- Miller, D. H., and Leary, S. M. (2007). Primary-progressive multiple sclerosis. *Lancet neurology*, 6(10), 903–912.
- Milo, R., and Kahana, E. (2010). Multiple sclerosis: geoepidemiology, genetics and the environment. *Autoimmunity reviews*, 9(5), A387–94.
- Minden, S. L., Orav, J., and Reich, P. (1987). Depression in multiple sclerosis. *General Hospital Psychiatry*, 9(6), 426–434.
- Minden, S. L., Moes, E. J., Orav, J., Kaplan, E., and Reich, P. (1990). Memory impairment in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 12(4), 566–586.

Minden, S. L., and Schiffer, R. B. (1990). Affective disorders in multiple sclerosis. Review and recommendations for clinical research. *Archives of neurology*, 47(1), 98–104.

Möller, A., Wiedemann, G., Rohde, U., Backmund, H., and Sonntag, A. (1994). Correlates of cognitive impairment and depressive mood disorder in multiple sclerosis. *Acta psychiatrica Scandinavica*, 89(2), 117–121.

Mori, S., and Zhang, J. (2006). Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*, 51(5), 527–539.

Morrow, S. A., Weinstock-Guttman, B., Munschauer, F. E., Hojnacki, D., and Benedict, R. H. B. (2009). Subjective fatigue is not associated with cognitive impairment in multiple sclerosis: cross-sectional and longitudinal analysis. *Multiple Sclerosis*, 15(8), 998–1005.

Moussa, M. N., Steen, M. R., Laurienti, P. J., and Hayasaka, S. (2012). Consistency of network modules in resting-state fMRI connectome data. *PloS one*, 7(8), e44428.

Mowry, E. M., Pesic, M., Grimes, B., Deen, S. R., Bacchetti, P., and Waubant, E. (2009). Clinical predictors of early second event in patients with clinically isolated syndrome. *Journal of neurology*, 256(7), 1061–1066.

N

Nagy, H., Bencsik, K., Rajda, C., Benedek, K., Beniczky, S., Kéri, S., et al. (2006). The effects of reward and punishment contingencies on decision-making in multiple sclerosis. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 12(4), 559–565.

Niepel, G., Tench, C. R., Morgan, P. S., Evangelou, N., Auer, D. P., and Constantinescu, C. S. (2006). Deep gray matter and fatigue in MS: a T1 relaxation time study. *Journal of neurology*, 253(7), 896–902.

Nyenhuis, D. L., Luchetta, T., Yamamoto, C., Terrien, A., Bernardin, L., Rao, S. M., et al. (1998). The development, standardization, and initial validation of the Chicago Multiscale Depression Inventory. *Journal of personality assessment*, 70(2), 386–401.

O

Owen, A. M., McMillan, K. M., Laird, A. R., and Bullmore, E. (2005). N-back working memory paradigm: a meta-analysis of normative functional neuroimaging studies. *Human brain mapping*, 25(1), 46–59.

P

Pan, J. W., Krupp, L. B., Elkins, L. E., and Coyle, P. K. (2001). Cognitive dysfunction lateralizes with NAA in multiple sclerosis. *Applied neuropsychology*, 8(3), 155–160.

Panou, T., Simos, P., Mastorodemos, V., Fassaraki, C., and Plaitakis, A. (2009). Variables Affecting Memory Deficits in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *The Internet Journal of Neurology*, 11(1).

Parmenter, B. A., Shucard, J. L., and Shucard, D. W. (2007a). Information processing deficits in multiple sclerosis: a matter of complexity. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 13(3), 417–423.

Parmenter, B. A., Zivadinov, R., Kerényi, L., Gavett, R., Weinstock-Guttman, B., Dwyer, M. G., et al. (2007b). Validity of the Wisconsin Card Sorting and Delis-Kaplan Executive Function System (DKEFS) Sorting Tests in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 29(2), 215–223.

Patti, F., Amato, M. P., Trojano, M., Bastianello, S., Tola, M. R., Goretti, B., et al. (2009). Cognitive impairment and its relation with disease measures in mildly disabled patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: baseline results from the Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis (COGIMUS) study. *Multiple Sclerosis*, 15(7), 779–788.

Paul, R. H., Beatty, W. W., Schneider, R., Blanco, C., and Hames, K. (1998). Impairments of attention in individuals with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 4(5), 433–439.

Pellicano, C., Gallo, A., Li, X., Ikonomidou, V. N., Evangelou, I. E., Ohayon, J. M., et al. (2010). Relationship of cortical atrophy to fatigue in patients with multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 67(4), 447–453.

- Penner, I. K., Rausch, M., Kappos, L., Opwis, K., and Radü, E. W. (2003). Analysis of impairment related functional architecture in MS patients during performance of different attention tasks. *Journal of neurology*, 250(4), 461–472.
- Penny, S., Khaleeli, Z., Cipelotti, L., Thompson, A., and Ron, M. (2010). Early imaging predicts later cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology*, 74(7), 545–552.
- Pérez-Miralles, F., Sastre-Garriga, J., Tintoré, M., Arrambide, G., Nos, C., Perkal, H., et al. (2013). Clinical impact of early brain atrophy in clinically isolated syndromes. *Multiple sclerosis* (in press).
- Piras, M. R., Magnano, I., Canu, E., Paulus, K., Satta, W., Soddu, A. G., et al. (2003). Longitudinal study of cognitive dysfunction in multiple sclerosis: neuropsychological, neuroradiological, and neurophysiological findings. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 74(7), 878–885.
- Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., et al. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology*, 69(2), 292–302.
- Polman, C. H., Reingold, S. C., Edan, G., Filippi, M., Hartung, H.-P., Kappos, L., et al. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Annals of neurology*, 58(6), 840–846.
- Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Siracusa, G., Sorbi, S., and Amato, M. P. (2009). A short version of Rao’s Brief Repeatable Battery as a screening tool for cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist*, 23(2), 268–275.
- Potagas, C., Giogkaraki, E., Koutsis, G., Mandellos, D., Tsirempolou, E., Sfagos, C., et al. (2008). Cognitive impairment in different MS subtypes and clinically isolated syndromes. *Journal of the neurological sciences*, 267(1-2), 100–106.
- Pozzilli, C., Tomassini, V., Marinelli, F., Paolillo, A., Gasperini, C., and Bastianello, S. (2003). “Gender gap” in multiple sclerosis: magnetic resonance imaging evidence. *European journal of neurology*, 10(1), 95–97.

Proal, E., Álvarez-Segura, M., Iglesia-Vayá, M. De, Martí-Bonmatí, L., and Castellanos, F. X. (2011). Actividad funcional cerebral en estado de reposo : redes en conexión. *Revista de Neurología*, (Supl 1): S3-10.

R

Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., and Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2), 676–682.

Randolph, J. J., Arnett, P. A., and Higginson, C. I. (2001). Metamemory and tested cognitive functioning in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist*, 15(3), 357–368.

Rao, S. M. (1986). Neuropsychology of multiple sclerosis: a critical review. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 8(5), 503–542.

Rao, S. M., Leo, G. J., Haughton, V. M., St Aubin-Faubert, P., and Bernardin, L. (1989). Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis. *Neurology*, 39(2 Pt 1), 161–166.

Rao, S. M., and Cognitive Function Study Group. (1990). *A manual for the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Test in multiple sclerosis*. New York: National Multiple Sclerosis Society.

Rao, S. M., Leo, G. J., Bernardin, L., and Unverzagt, F. (1991a). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology*, 41(5), 685–691.

Rao, S. M., Leo, G. J., Ellington, L., Nauertz, T., Bernardin, L., and Unverzagt, F. (1991b). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning. *Neurology*, 41(5), 692–696.

Rao, S. M., Grafman, J., DiGiulio, D., and Mittenberg, W. (1993). Memory dysfunction in multiple sclerosis: Its relation to working memory, semantic encoding, and implicit learning. *Neuropsychology*, 7(3), 364–374.

Rao, S. M. (1995). Neuropsychology of multiple sclerosis. *Current opinion in neurology*, 8(3), 216–220.

- Reuter, F., Zaaaroui, W., Crespy, L., Faivre, A., Rico, A., Malikova, I., et al. (2011). Cognitive impairment at the onset of multiple sclerosis: relationship to lesion location. *Multiple Sclerosis*, 17(6), 755–758.
- Riccitelli, G., Rocca, M. A., Pagani, E., Rodegher, M. E., Rossi, P., Falini, A., et al. (2011a). Cognitive impairment in multiple sclerosis is associated to different patterns of gray matter atrophy according to clinical phenotype. *Human brain mapping*, 32(10), 1535–1543.
- Riccitelli, G., Rocca, M. A., Forn, C., Colombo, B., Comi, G., and Filippi, M. (2011b). Voxelwise assessment of the regional distribution of damage in the brains of patients with multiple sclerosis and fatigue. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 32(5), 874–879.
- Ripollés, P., Marco-Pallarés, J., de Diego-Balaguer, R., Miró, J., Falip, M., Juncadella, M., et al. (2012). Analysis of automated methods for spatial normalization of lesioned brains. *NeuroImage*, 60(2), 1296–306.
- Roca, M., Torralva, T., Meli, F., Fiol, M., Calcagno, M., Carpintiero, S., et al. (2008). Cognitive deficits in multiple sclerosis correlate with changes in fronto-subcortical tracts. *Multiple Sclerosis*, 14(3), 364–369.
- Rocca, M. A., Gatti, R., Agosta, F., Broglio, P., Rossi, P., Riboldi, E., et al. (2009). Influence of task complexity during coordinated hand and foot movements in MS patients with and without fatigue. A kinematic and functional MRI study. *Journal of neurology*, 256(3), 470–482.
- Rocca, M. A., Valsasina, P., Absinta, M., Riccitelli, G., Rodegher, M. E., Misci, P., et al. (2010). Default-mode network dysfunction and cognitive impairment in progressive MS. *Neurology*, 74(16), 1252–1259.
- Roosendaal, S. D., Moraal, B., Pouwels, P. J., Vrenken, H., Castelijns, J. A., Barkhof, F., et al. (2009). Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Multiple Sclerosis*, 15(6), 708–714.
- Roosendaal, S. D., Schoonheim, M. M., Hulst, H. E., Sanz-Arigita, E. J., Smith, S. M., Geurts, J. J., et al. (2010). Resting state networks change in clinically isolated syndrome. *Brain*, 133(Pt 6), 1612–1621.

Rosche, B., Laurent, S., Conradi, S., Hofmann, J., Ruprecht, K., and Harms, L. (2012). Measles IgG antibody index correlates with T2 lesion load on MRI in patients with early multiple sclerosis. *PloS one*, 7(1), e28094.

Rossi, F., Giorgio, A., Battaglini, M., Stromillo, M. L., Portaccio, E., Goretti, B., et al. (2012). Relevance of brain lesion location to cognition in relapsing multiple sclerosis. *PloS one*, 7(11), e44826.

Rovaris, M., Filippi, M., Falautano, M., Minicucci, L., Rocca, M. A., Martinelli, V., et al. (1998). Relation between MR abnormalities and patterns of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology*, 50(6), 1601–1608.

Rovaris, M., and Filippi, M. (2000). MRI correlates of cognitive dysfunction in multiple sclerosis patients. *Journal of neurovirology*, 6 Suppl 2, S172–175.

Rovaris, M., Filippi, M., Minicucci, L., Iannucci, G., Santuccio, G., Possa, F., et al. (2000). Cortical/subcortical disease burden and cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 21(2), 402–408.

Rovaris, M., Iannucci, G., Falautano, M., Possa, F., Martinelli, V., Comi, G., et al. (2002). Cognitive dysfunction in patients with mildly disabling relapsing-remitting multiple sclerosis: an exploratory study with diffusion tensor MR imaging. *Journal of the neurological sciences*, 195(2), 103–109.

Rovaris, M., Comi, G., and Filippi, M. (2006). MRI markers of destructive pathology in multiple sclerosis-related cognitive dysfunction. *Journal of the neurological sciences*, 245(1-2), 111–116.

Rovira, A., Alonso, J., Cucurella, G., Nos, C., Tintoré, M., Pedraza, S., et al. (1999). Evolution of multiple sclerosis lesions on serial contrast-enhanced T1-weighted and magnetization-transfer MR images. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 20(10), 1939–1945.

S

Sahraian, M. A., Radue, E. W., Haller, S., and Kappos, L. (2010). Black holes in multiple sclerosis: definition, evolution, and clinical correlations. *Acta neurologica Scandinavica*, 122(1), 1–8.

- Sánchez, M. P., Nieto, A., Barroso, J., Martín, V., and Hernández, M. A. (2008). Brain atrophy as a marker of cognitive impairment in mildly disabling relapsing-remitting multiple sclerosis. *European journal of neurology*, 15(10), 1091–9.
- Sanz, J., and Vázquez, C. (1998). Reliability, validity, and normative data of the Beck Depression Inventory. *Psicothema*, 10(2), 303–318.
- Sastre-Garriga, J., Arévalo, M. J., Renom, M., Alonso, J., González, I., Galán, I., et al. (2009). Brain volumetry counterparts of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, 282(1-2), 120–124.
- Savettieri, G., Messina, D., Andreoli, V., Bonavita, S., Caltagirone, C., Cittadella, R., et al. (2004). Gender-related effect of clinical and genetic variables on the cognitive impairment in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 251(10), 1208–1214.
- Schiffer, R. B., and Babigian, H. M. (1984). Behavioral disorders in multiple sclerosis, temporal lobe epilepsy, and amyotrophic lateral sclerosis. An epidemiologic study. *Archives of neurology*, 41(10), 1067–1069.
- Schiffer, R. B., and Caine, E. D. (1991). The interaction between depressive affective disorder and neuropsychological test performance in multiple sclerosis patients. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 3(1), 28–32.
- Schoonheim, M. M., Geurts, J. J. G., and Barkhof, F. (2010). The limits of functional reorganization in multiple sclerosis. *Neurology*, 74(16), 1246–1247.
- Schwid, S. R., Goodman, A. D., Weinstein, A., McDermott, M. P., and Johnson, K. P. (2007). Cognitive function in relapsing multiple sclerosis: minimal changes in a 10-year clinical trial. *Journal of the neurological sciences*, 255(1-2), 57–63.
- Sepulcre, J., Vanotti, S., Hernández, R., Sandoval, G., Cáceres, F., Garcea, O., et al. (2006). Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis using the Brief Repeatable Battery-Neuropsychology test. *Multiple Sclerosis*, 12(2), 187–195.
- Sepulcre, J., Masdeu, J. C., Sastre-Garriga, J., Goñi, J., Vélez-de-Mendizábal, N., Duque, B., et al. (2008). Mapping the brain pathways of declarative verbal memory: Evidence from white matter lesions in the living human brain. *NeuroImage*, 42(3), 1237–1243.

Sepulcre, J., Masdeu, J. C., Pastor, M. A., Goñi, J., Barbosa, C., Bejarano, B., et al. (2009a). Brain pathways of verbal working memory: a lesion-function correlation study. *NeuroImage*, 47(2), 773–778.

Sepulcre, J., Masdeu, J. C., Goñi, J., Arrondo, G., Vélez de Mendizábal, N., Bejarano, B., et al. (2009b). Fatigue in multiple sclerosis is associated with the disruption of frontal and parietal pathways. *Multiple Sclerosis*, 15(3), 337–344.

Sicotte, N. L., Kern, K. C., Giesser, B. S., Arshanapalli, A., Schultz, a, Montag, M., et al. (2008). Regional hippocampal atrophy in multiple sclerosis. *Brain*, 131(Pt 4), 1134–1141.

Smith, E. E., and Jonides, J. (1997). Working memory: a view from neuroimaging. *Cognitive psychology*, 33(1), 5–42.

Smith, M. M., and Arnett, P. A. (2010). Awareness of executive functioning deficits in multiple sclerosis: self versus informant ratings of impairment. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 32(7), 780–787.

Sperling, R. A., Guttmann, C. R., Hohol, M. J., Warfield, S. K., Jakab, M., Parente, M., et al. (2001). Regional magnetic resonance imaging lesion burden and cognitive function in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Archives of neurology*, 58(1), 115–121.

Staffen, W, Mair, A., Zauner, H., Unterrainer, J., Niederhofer, H., Kutzelnigg, A., et al. (2002). Cognitive function and fMRI in patients with multiple sclerosis: evidence for compensatory cortical activation during an attention task. *Brain*, 125(Pt 6), 1275–1282.

Staffen, W., Zauner, H., Mair, A., Kutzelnigg, A., Kapeller, P., Stangl, H., et al. (2005). Magnetic resonance spectroscopy of memory and frontal brain region in early multiple sclerosis. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 17(3), 357–363.

Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8(3), 448–460.

Summers, M., Fisniku, L., Anderson, V., Miller, D., Cipelotti, L., and Ron, M. (2008). Cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis can be predicted by imaging performed several years earlier. *Multiple Sclerosis*, 14(2), 197–204.

Sumowski, J. F., Chiaravalloti, N., and DeLuca, J. (2009a). Cognitive reserve protects against cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, 31(8), 913–926.

Sumowski, J. F., Chiaravalloti, N., Wylie, G., and Deluca, J. (2009b). Cognitive reserve moderates the negative effect of brain atrophy on cognitive efficiency in multiple sclerosis. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 15(4), 606–612.

Sumowski, J. F., Wylie, G. R., Leavitt, V. M., Chiaravalloti, N. D., and DeLuca, J. (2013). Default network activity is a sensitive and specific biomarker of memory in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 19(2), 199–208.

Supekar, K., Uddin, L. Q., Prater, K., Amin, H., Greicius, M. D., and Menon, V. (2010). Development of functional and structural connectivity within the default mode network in young children. *NeuroImage*, 52(1), 290–301.

Sweet, L. H., Rao, S. M., Primeau, M., Mayer, A. R., and Cohen, R. A. (2004). Functional magnetic resonance imaging of working memory among multiple sclerosis patients. *Journal of neuroimaging*, 14(2), 150–157.

Sweet, L. H., Rao, S. M., Primeau, M., Durgerian, S., and Cohen, R. A. (2006). Functional magnetic resonance imaging response to increased verbal working memory demands among patients with multiple sclerosis. *Human brain mapping*, 27(1), 28–36.

Swirsky-Sacchetti, T., Mitchell, D. R., Seward, J., Gonzales, C., Lublin, F., Knobler, R., et al. (1992). Neuropsychological and structural brain lesions in multiple sclerosis: a regional analysis. *Neurology*, 42(7), 1291–1295.

T

Tartaglia, M. C., Narayanan, S., Francis, S. J., Santos, A. C., De Stefano, N., Lapierre, Y., et al. (2004). The relationship between diffuse axonal damage and fatigue in multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 61(2), 201–207.

Tedeschi, G., Dinacci, D., Lavorgna, L., Prinster, A., Savettieri, G., Quattrone, A., et al. (2007). Correlation between fatigue and brain atrophy and lesion load in multiple sclerosis patients independent of disability. *Journal of the neurological sciences*, 263(1-2), 15–19.

Tekok-Kilic, A., Benedict, R. H., Weinstock-Guttman, B., Dwyer, M. G., Carone, D., Srinivasaraghavan, B., et al. (2007). Independent contributions of cortical gray matter atrophy and ventricle enlargement for predicting neuropsychological impairment in multiple sclerosis. *NeuroImage*, 36(4), 1294–300.

Téllez, N., Alonso, J., Ríó, J., Tintoré, M., Nos, C., Montalban, X., et al. (2008). The basal ganglia: a substrate for fatigue in multiple sclerosis. *Neuroradiology*, 50(1), 17–23.

Thornton, A. E., and Raz, N. (1997). Memory impairment in multiple sclerosis: a quantitative review. *Neuropsychology*, 11(3), 357–366.

Tiemann, L., Penner, I. K., Haupts, M., Schlegel, U., and Calabrese, P. (2009). Cognitive decline in multiple sclerosis: impact of topographic lesion distribution on differential cognitive deficit patterns. *Multiple Sclerosis*, 15(10), 1164–1174.

Tintoré, M., Rovira, A., Ríó, J., Nos, C., Grivé, E., Téllez, N., et al. (2006). Baseline MRI predicts future attacks and disability in clinically isolated syndromes. *Neurology*, 67(6), 968–972.

Tintoré, M., Rovira, A., Ríó, J., Tur, C., Pelayo, R., Nos, C., et al. (2008). Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology*, 70(13 Pt 2), 1079–1083.

Tirapu-Ustárriz, J., Muñoz-Céspedes, J. M., and Pelegrín-Valero, C. (2003). Hacia una taxonomía de la conciencia [Towards a taxonomy of consciousness]. *Revista de neurología*, 36(11), 1083–1093.

Tomassini, V., Onesti, E., Mainero, C., Giugni, E., Paolillo, A., Salvetti, M., et al. (2005). Sex hormones modulate brain damage in multiple sclerosis: MRI evidence. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 76(2), 272–275.

Tumani, H., Sapunova-Mayer, I., Süßmuth, S. D., Hirt, V., and Brettschneider, J. (2009). CIS case studies. *Journal of the neurological sciences*, 287 Suppl, S7–10.

U

Urbanek, C., Weinges-Evers, N., Bellmann-Strobl, J., Bock, M., Dörr, J., Hahn, E., et al. (2010). Attention Network Test reveals alerting network dysfunction in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 16(1), 93–99.

V

Van Buchem, M. A., Grossman, R. I., Armstrong, C., Polansky, M., Miki, Y., Heyning, F. H., et al. (1998). Correlation of volumetric magnetization transfer imaging with clinical data in MS. *Neurology*, 50(6), 1609–1617.

Van den Burg, W., van Zomeren, A. H., Minderhoud, J. M., Prange, A. J., and Meijer, N. S. (1987). Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis and mild physical disability. *Archives of Neurology*, 44(5), 494–501.

Van der Werf, S. P., Jongen, P. J., Lycklama à Nijeholt, G. J., Barkhof, F., Hommes, O. R., and Bleijenberg, G. (1998). Fatigue in multiple sclerosis: interrelations between fatigue complaints, cerebral MRI abnormalities and neurological disability. *Journal of the neurological sciences*, 160(2), 164–170.

Van Walderveen, M. A., Lycklama à Nijeholt, G. J., Adèr, H. J., Jongen, P. J., Polman, C. H., Castelijns, J. A., et al. (2001). Hypointense lesions on T1-weighted spin-echo magnetic resonance imaging: relation to clinical characteristics in subgroups of patients with multiple sclerosis. *Archives of neurology*, 58(1), 76–81.

Vellinga, M. M., Geurts, J. J., Rostrup, E., Uitdehaag, B. M., Polman, C. H., Barkhof, F., et al. (2009). Clinical correlations of brain lesion distribution in multiple sclerosis. *Journal of magnetic resonance imaging*, 29(4), 768–773.

Vitkovitch, M., Bishop, S., Dancy, C., and Richards, A. (2002). Stroop interference and negative priming in patients with multiple sclerosis. *Neuropsychologia*, 40(9), 1570–1576.

Vrenken, H., Pouwels, P. J., Geurts, J. J., Knol, D. L., Polman, C. H., Barkhof, F., et al. (2006). Altered diffusion tensor in multiple sclerosis normal-appearing brain tissue: cortical diffusion changes seem related to clinical deterioration. *Journal of magnetic resonance imaging*, 23(5), 628–636.

W

Weatherby, S. J., Mann, C. L., Davies, M. B., Fryer, A. A., Haq, N., Strange, R. C., et al. (2000). A pilot study of the relationship between gadolinium-enhancing lesions, gender effect and polymorphisms of antioxidant enzymes in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 247(6), 467–470.

Wechsler, D. (2008). *Wechsler Adult Intelligence Scale — Fourth Edition (WAIS-IV)* (Pearson.). New York.

White, A. T., Lee, J. N., Light, A. R., and Light, K. C. (2009). Brain activation in multiple sclerosis: a BOLD fMRI study of the effects of fatiguing hand exercise. *Multiple Sclerosis*, 15(5), 580–586.

Whitfield-Gabrieli, S., and Ford, J. M. (2012). Default mode network activity and connectivity in psychopathology. *Annual review of clinical psychology*, 8, 49–76.

Winkelmann, A., Engel, C., Apel, A., and Zettl, U. K. (2007). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Journal of neurology*, 254 Suppl (2007), II35–42.

Wishart, H. A., Saykin, A. J., McDonald, B. C., Mamourian, A. C., Flashman, L. A., Schuschu, K. R., et al. (2004). Brain activation patterns associated with working memory in relapsing-remitting MS. *Neurology*, 62(2), 234–238.

Z

Zipoli, V., Goretti, B., Hakiki, B., Siracusa, G., Sorbi, S., Portaccio, E., et al. (2010). Cognitive impairment predicts conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndromes. *Multiple Sclerosis*, 16(1), 62–67.

Zivadinov, R., Sepcic, J., Nasuelli, D., De Masi, R., Bragadin, L. M., Tommasi, M. A., et al. (2001). A longitudinal study of brain atrophy and cognitive disturbances in the

early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 70(6), 773–780.

*** Las referencias específicas de los estudios presentados en esta tesis están incluidas en su sección correspondiente.**