

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



**“ESTUDIO ELECTROFISIOLÓGICO DE LA MEMORIA DE
TRABAJO EN PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE”**

ALEJANDRA MABEL FIGUEROA VARGAS

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS Y MÉDICAS
MENCION NEUROCIENCIAS**

**Director de Tesis: Dr. Francisco Aboitiz Domínguez
Co-Director de Tesis: Pablo Billeke Bobadilla**

2015

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**

INFORME DE APROBACION TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por la candidata

ALEJANDRA MABEL FIGUEROA VARGAS

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias Biológicas y Médicas, mención Neurociencias, en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 8 de Octubre del año 2015.

.....
Prof. Dr. Francisco Aboitiz D.
Director de Tesis

.....
Prof. Dr. Pablo Billeke B.
Co-Director de Tesis

COMISION INFORMANTE DE TESIS

Prof. Dr:.....

Prof. Dra:.....

Prof. Dr:.....

Prof. Dr:.....
Presidente Comisión

Dedicatoria

Muchas gracias a mi familia, especialmente a Gustavo, Emilia y Agustina por todo el apoyo y comprensión durante todos estos años de formación y trabajo de tesis...Sin ustedes, nada de esto sería realidad.

Agradecimientos

A mi director de tesis, Dr. Francisco Aboitiz D. PhD. por el apoyo durante la realización de esta tesis.

A mi co-director, Dr. Pablo Billeke B. PhD. por toda su paciencia y generosidad en la realización de este proyecto.

Al laboratorio de Neurociencias Cognitivas del Centro de Investigaciones Médicas, de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Al Departamento de Neurología del Hospital Clínico de la Pontificia de la Universidad Católica de Chile, especialmente a la neuroóloga Dra. Claudia Cárcamo Rodríguez por toda su colaboración y entusiasmo en que este proyecto de llevara a cabo.

Al Laboratorio de Neurociencia de la Conducta del Centro de Investigación en Complejidad Social de la Facultad de Gobierno de la Universidad del Desarrollo por facilitar sus instalaciones para desarrollar este proyecto.

Al Dr. Francisco Zamorano Phd. por toda su ayuda y apoyo durante estos años.

A todos los participantes del estudio que generosamente participaron en este proyecto.

INDICE

1. Resumen	6
2. Abstract.....	7
I. Introducción.....	8
II. Hipótesis de Trabajo.....	15
III. Objetivos	
1. Objetivos Generales.....	16
2. Objetivos Específicos.....	16
IV. Materiales y Métodos	
1. Sujetos.....	17
2. Paradigma Experimental.....	18
3. Registro y Análisis Electrofisiológico.....	21
4. Análisis Estadístico.....	22
V. Resultados	
1. Resultados conductuales.....	24
2. Resultados Electrofisiológicos.....	25
2.1. Potenciales relacionados a eventos (ERP).....	25
2.2. Análisis Tiempo-Frecuencia.....	29
3. Correlaciones.....	36
VI. Discusión	
1. Resultados Conductuales.....	37
2. Resultados Electrofisiológicos.....	38
3. Análisis Tiempo-Frecuencia.....	43
4. Futuras Direcciones.....	45
VII. Conclusiones.....	47
VIII. Bibliografía.....	48
Anexo N°1 “Consentimiento Informado”.....	53

Resumen

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad neurológica que se caracteriza por progresivas y amplias lesiones en el cerebro y médula espinal, contemplando síntomas motores, cognitivos y neuropsiquiátricos. Los síntomas cognitivos abarcan entre el 40 y el 70% de los pacientes con EM, afectando su funcionalidad tanto en etapas tempranas como tardías de la enfermedad. Dentro de los déficits cognitivos más comunes se encuentra la alteración de la memoria. Esta habilidad cognitiva es fundamental para guiar la conducta hacia la obtención de metas. Dentro de la memoria de corta duración; la memoria de trabajo (MT) específicamente juega un rol relevante en el proceso cognitivo de múltiples funciones cognitivas. La evidencia acerca de esta enfermedad es escasa y contradictoria respecto a la naturaleza de esta alteración cognitiva y de cómo evoluciona. Por este motivo, el presente estudio propone estudiar la MT utilizando el Paradigma de Sternberg modificado y registros electroencefalográficos durante la tarea solicitada. Se midieron dos grupos; un grupo de pacientes con EM sin alteraciones cognitivas manifiestas y otro grupo control de personas sanas. A los participantes se les presentó un arreglo de 2, 4 o 6 consonantes que debieron memorizar. Luego se mostró una pantalla negra y finalmente se presentó un estímulo objetivo (una consonante). Tras esto, los sujetos debieron responder rápidamente si la consonante mostrada en el estímulo objetivo se encontraba presente o ausente en el set de memoria presentado inicialmente. Se encontraron diferencias significativas en los tiempos de reacción y respuestas correctas en relación a la carga de MT para ambos grupos, sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre ellos. En cuanto a los Potenciales Relacionados a Eventos (ERPs), se evidenció una modulación de las amplitudes de potenciales tardíos por la carga de memoria en ambos grupos; encontrándose amplitudes significativamente mayores en el grupo de controles sanos. En los patrones de frecuencias; en ambos grupos se encontró una disminución de la actividad alfa en la etapa final de la codificación y primera etapa de la mantención, presentando el grupo control una mayor modulación en relación a la carga de MT. Además los pacientes con EM presentaron un aumento de la actividad alfa y beta en la etapa de mantención y en la etapa de recuperación se observó un aumento de la actividad alfa, principalmente para las condiciones de mayor carga de MT. Las diferencias en los potenciales tardíos y en las oscilaciones cerebrales de alfa y beta, serían variables electrofisiológicas útiles en detectar alteraciones tempranas de la MT en pacientes con EM.

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a neurological disorder characterized by progressive and extensive lesions in the brain and spinal cord, contemplating motor, cognitive and neuropsychiatric symptoms. Cognitive symptoms comprise between 40 and 70% of MS patients, affecting their functionality in both early and late stages of the disease. Memory impairment is one of the most common cognitive deficits in these patients. This cognitive ability is essential to guide behavior toward achieving goals. As part of short-term memory; Working Memory (WM) plays an important role in the cognitive process of multiple cognitive functions. The evidence about MS is scarce and contradictory regarding the nature of its cognitive impairment and its evolution. The aim of the present research is to study the WM using the modification of the Steinberg Paradigm and electrophysiological recording during the requested tasks. Two groups were measured; one of MS patients without the manifest of cognitive alteration and another controlled group of well-matching healthy people. Participants watched arrays of 2, 4 or 6 consonants that had to be memorized. Then a black screen was shown and finally an objective stimulus was displayed (a consonant). The subjects had to respond quickly whether the consonant in the objective stimulus was either present on the array initially shown. We found significant differences in the reaction timing and correct responses in relation to the load of working memory for both the control group and the MS group. However, no significant differences between both groups were found. Regarding to Event-Related Potentials (ERPs), we found modulation in amplitudes of late potentials by memory load in both groups; showing significantly higher amplitudes on the control group. In time-frequency analyses, the both groups showed a reduction in the alpha activity in the end of codification and the beginning of the maintenance. This alpha activity modulation was significantly higher for control group. Furthermore, MS patients showed increased alpha and beta activity in the maintenance stage and the recovery stage was observed increased alpha activity, mainly for higher load conditions of MT. Differences in late potentials and in cortical oscillations alpha y beta, electrophysiological variables would be useful in early detecting of alterations in the WM in patients with MS.

I.- INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM)[1]–[4] es una enfermedad progresiva del sistema nervioso central. Patológicamente se caracteriza por la presencia de lesiones desmielinizantes múltiples y focales que se distribuyen a lo largo de la sustancia blanca [5], así como daño más difuso y sutil en tejidos de apariencia normal de la sustancia blanca y estructuras de la sustancia gris, demostrando un importante componente neurodegenerativo [6].

Se han identificado cuatro cursos clínicos de la EM, basándose en la frecuencia de la progresión de la enfermedad. La forma de episodios recurrentes y remitentes (RRMS, sigla en inglés), se caracteriza por períodos en que los síntomas están exacerbados y se observa una recuperación completa entre los ataques [1-11]. Alrededor de un 80% de los sujetos con RRMS, con el tiempo pueden evolucionar a la forma progresiva secundaria (SPMS); en la cual los síntomas empeoran gradualmente con o sin recaídas ocasionales o con remisiones menores [1-11]. El curso de la EM con recaídas-progresivas se caracteriza por una progresiva declinación después del inicio de la enfermedad, con algunos períodos agudos de recaída de los síntomas, cuya recuperación aguda es incierta [1-11]. El último curso corresponde a una expresión progresiva-primaria (PPMS), la cual se presenta con un empeoramiento gradual y continuo de los síntomas sin exacerbación o remisión de los síntomas [1].

Los pacientes con EM presentan un conjunto heterogéneo de trastornos neurológicos y déficits cognitivos[2], [4], [7]–[10]. El deterioro cognitivo alcanza una prevalencia entre el 43% al 70% de los pacientes, afectándolos tanto en las etapas tempranas como las tardías de la enfermedad [1], [7], [8], [11].

Los dominios cognitivos afectados en la EM, incluyen atención, aprendizaje, habilidades visuoespaciales, memoria, velocidad de procesamiento, funciones ejecutivas,

habilidades lingüísticas y fluidez verbal [1], [2], [5], [9], [10], [12], [13]. Dentro de las alteraciones cognitivas que se presentan con mayor frecuencia, se encuentran la velocidad de procesamiento, el aprendizaje visual y la memoria [1], [2], [14], [15]. Mientras que la demencia severa, según los criterios de ICD-10 es poco común y se observa principalmente en las etapas finales de la EM [7] [16].

Los déficits cognitivos en EM han sido convencionalmente atribuidos a una conducción enlentecida, como resultado de las alteraciones en la sustancia blanca [6],[17]. Sin embargo, el daño difuso de la sustancia blanca, se correlaciona mejor con procesos cognitivos más complejos, que requieren comunicación a través de redes corticales a gran escala [6], [18].

Las alteraciones de la memoria relacionadas a la EM, afectan principalmente a la memoria de largo plazo y la memoria de trabajo [1], [5], [7], [9]; mientras que la memoria no declarativa, para aprendizaje de habilidades, está usualmente conservada [9]. La naturaleza de estas alteraciones ha sido un tema de debate en la literatura, inicialmente se sugirió que la causa principal de la alteración de la memoria de largo plazo en pacientes con EM, se debía a la dificultad para recuperar la información almacenada a largo plazo [19], [20]. Sin embargo, recientes estudios han señalado que la causa principal del déficit de memoria está en la etapa inicial de aprendizaje de la información [1], [21], [22], [23].

Como se mencionó previamente, la memoria de trabajo es uno de los déficits más comúnmente alterados en la EM, encontrándose afectada tempranamente en el curso de la enfermedad [6], [20], [24]. Cualquier tarea de memoria de trabajo requiere la sincronización de conexiones a gran escala entre las regiones prefrontal, cíngulo y parietal, integrando información compleja para generar respuestas apropiadas. Tales sistemas distribuidos son sensibles al daño difuso de la sustancia blanca y gris encontrado en la EM [6], [25].

En cuanto a la memoria, se puede decir, que es una habilidad cognitiva fundamental, ya que por medio de ella se codifica, organiza, almacena y recupera una gran variedad de información que guía la conducta del individuo hacia la obtención de sus metas.

La memoria no es una función cerebral estática, única o aislada, sino que está compuesta de múltiples sistemas que tienen diferentes principios operacionales y diferente neuroanatomía[26]. Según el mecanismo de acceso, se puede distinguir entre memoria consciente o memoria declarativa para hechos y eventos; y memoria inconsciente, que consiste en habilidades de memoria no declarativa, tales como el aprendizaje de habilidades y hábitos. La memoria no declarativa se expresa en el desempeño de las habilidades adquiridas, mientras que la memoria declarativa lo hace a través del recuerdo. Los diferentes sistemas de memoria operan en paralelo para sostener la conducta[27].

Por otra parte, la memoria se clasifica temporalmente en tres tipos: memoria inmediata (fracciones de segundos a segundos), memoria de trabajo (segundos a minutos) y memoria de largo plazo (días a años)[28], [29]

La habilidad para mantener una conversación o bien recordar un número telefónico, puede ser atribuida específicamente, a la memoria de trabajo (MT). Esta capacidad cognitiva se define como un sistema de memoria a corto plazo para la mantención y manipulación temporal de información, que guía la conducta hacia a un objetivo[29], [30]. La MT permite la conexión entre la percepción, la acción y la memoria de largo plazo, constituyendo un componente fundamental del sistema cognitivo, tanto en humanos como en animales[31].

Varios modelos han sido desarrollados para explicar los principios funcionales y organizacionales de la MT, destacándose entre ellos el modelo básico de multi-componentes propuesto por Baddeley y Hitch en 1974[28]–[30], el cual ha continuado desarrollándose a lo largo de estos años. Este concepto de MT está compuesto por un sistema de control

denominado ejecutivo central, el cual es asistido por dos sistemas de almacenamiento, el circuito fonológico y el esquema visuoespacial. El control ejecutivo dirige un número de procesos que entregan un control atencional sobre los otros componentes de la MT así como otras habilidades cognitivas. Los otros componentes subordinados (circuito fonológico y esquema visuoespacial) con una capacidad de memoria limitada son capaces de la representación y mantención de la información. Todo esto proceso involucra etapas básicas de procesamiento de la MT, contemplando la codificación de los estímulos presentados, el almacenamiento o mantención de dicha información y la posterior recuperación para resolver las actividades cognitivas requeridas[29], [32], [33]

En estudios neuroanatómicos y funcionales de MT en animales y humanos, se ha revelado que la MT involucrada en el procesamiento sensorial, depende de la actividad neural de varias regiones corticales, que incluyen principalmente a la corteza prefrontal (CPF) y a las áreas de asociación posterior[34]–[36]. En investigaciones con imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI), que examinaron la relación entre MT visual y actividad cerebral, al manipular la carga de memoria, se han exhibido los efectos de las demandas de la tarea sobre el desempeño de la MT[37]–[39]. En estos estudios se ha encontrado que la activación dentro de la CPF y corteza parietal, aumenta o disminuye dependiendo de la carga y de la etapa del procesamiento de la MT[37], [39], [40].

Mientras las regiones cerebrales involucradas en la MT, pueden ser establecidas por identificación de las regiones activadas metabólicamente a través de PET o fMRI, las bases neurofisiológicas, en particular, la secuencia temporal de eventos de la MT pueden ser mejor caracterizadas usando electroencefalografía (EEG). Dentro de esta técnica, existen varias formas de estudiar la actividad eléctrica cerebral, entre ellas se encuentran los potenciales relacionados a eventos (ERPs). Estas técnicas estudian los pequeños cambios de la actividad

eléctrica cerebral, que son registrados en el cuero cabelludo en respuesta a un estímulo sensorial o a una tarea específica[41].

Uno de los componentes de las ondas eléctricas cerebrales corresponde al P300, el cual se define como una deflexión positiva de los ERPs, que se presenta entre los 300 y 600 ms, luego de la presentación de un estímulo sobresaliente[41], [42]. Mediante los estudios electrofisiológicos, tanto el peak de la amplitud como la distribución topográfica del P300 han mostrado ser sensibles a la relevancia de la tarea, a las funciones de actualizaciones de la memoria, al contexto del estímulo y a los procesos de evaluación y aprendizaje[43].

En relación a la capacidad limitada de la MT, Shucard et al[34] mostró que bajo condiciones de alta carga de MT se produjo una menor amplitud del componente P300 de los potenciales relacionados a eventos (ERPs) en las áreas anteriores y una mayor amplitud en las áreas posteriores en comparación a situaciones de baja carga de MT[34], [44], similar a lo observado en los estudios de fMRI relacionados a la carga de memoria, comentado anteriormente. Además se estudiaron las dinámicas espacio-temporales de la MT en tareas verbales y espaciales, observándose un patrón de activación fronto-parietal similar para ambas tareas[34], avalando la organización proceso-específica de la MT[45].

Típicamente, se observa una distribución topográfica máxima de P300 en la región parietal para la detección de estímulos objetivos, mientras que una mayor distribución topográfica ocurre en la regiones fronto-centrales, bajo condiciones de estímulos de novedad, inhibición de la respuesta e aumento de la dificultad de la tarea[34], [35]. Las diferencias en las distribuciones topográficas máximas de las amplitudes de P300 fronto-centrales versus parietales han mostrado ser generadas por distintas estructuras neuronales frontales y parietales[34]. En base a la evidencia discutida, la respuesta de P300 parece ser una buena medida para estudiar los procesos de la MT.

Las oscilaciones cerebrales se refieren a las fluctuaciones rítmicas de los potenciales postsinápticos de una región cortical, en el caso de un EEG[41]. En relación a este tema, se han reportado recientes trabajos teóricos y experimentales, cuya atención ha sido el rol de las oscilaciones cerebrales en la MT, existiendo un particular interés en las oscilaciones de las bandas de frecuencia alfa y teta[46]. Jensen et al[47] describieron un incremento sistemático en la banda alfa a medida que aumentaba el número de elementos almacenados en la MT, que fue más prominente en las regiones posteriores y centrales durante la mayor parte del tiempo de la etapa de almacenamiento, observándose una rápida disminución de este poder alfa, posterior a la presentación del estímulo objetivo[47].

La dependencia de la carga de memoria y la estrecha regulación temporal de la actividad alfa entrega una evidencia fuerte de que el sistema de generación de alfa está directamente o indirectamente unido a los circuitos responsables de la MT[47], [48].

Por otra parte, existe una gran controversia sobre la naturaleza del déficit de memoria de corto plazo, reportándose resultados contradictorios sobre el rol que cumplirían cada una de las diferentes etapas de la MT (codificación, mantención y recuperación)[49], [23], [21], [22], [50], [51]. Para ello, en este trabajo plantemos la incorporación de la Prueba de Exploración de Memoria de Sternberg, ya que esta prueba permitiría aislar o separar cada uno de los mecanismos asociados con las etapas individuales de la MT[52], [53].

Este paradigma experimental ofrece la posibilidad de estudiar los períodos básicos contemplados en la MT, a través de la presentación aleatoria de una serie de dígitos, que puede ser entre uno a cinco. Luego de una pausa, un dígito objetivo es presentado y los sujetos tienen que indicar si el dígito objetivo fue parte de la serie presentada presionando un botón “sí” o un “no” tan rápido como sea posible[52], [53].

Si bien, mientras estudios de MRI estructural entregan información acerca de la extensión espacial de las lesiones de la sustancia blanca en los sujetos con EM, las pruebas neurofisiológicas constituyen una buena herramienta para medir la integridad de las vías aferentes y eferentes y cuantificar la severidad de la sustancia blanca involucrada[54], [55]. Sin embargo, existe escasa información relacionada a la evolución de estas disfunciones cognitivas durante el curso de esta enfermedad[10], [56]–[59] y además existe una amplia variabilidad en los resultados de estudios electrofisiológicos en pacientes con EM[58]–[60].

Según lo expuesto anteriormente, se plantea que entre las alteraciones cognitivas que afectan a los sujetos con EM, se observa un déficit en el aprendizaje y la memoria. Sin embargo, se desconoce con claridad si este fenómeno estaría dado sólo por alteraciones en la MT y si fuera así, no se ha precisado qué etapa específica de este proceso lo determinaría.

Por otra parte, el patrón temporal de las oscilaciones cerebrales en las diferentes etapas de la MT, podría verse alterada por las disfunciones en la sustancia blanca de los pacientes con EM, ocasionando con ello una modificación en los patrones de actividad cerebral relacionadas a la eficiencia de la MT.

El impacto negativo de los deterioros cognitivos en la funcionalidad de los sujetos con EM, hacen muy relevante la detección temprana y el seguimiento de las alteraciones cognitivas ocasionadas por esta patología[56], [57], [20].

II. HIPOTESIS DE TRABAJO.

Hipótesis General.

Pacientes con EM sin deficiencias conductuales en MT presentan alteraciones en los circuitos cerebrales de MT, evidenciándose a través de la actividad eléctrica cerebral, que puede servir como marcador temprano de estas disfunciones.

Hipótesis Específicas.

Pacientes con EM sin deficiencias conductuales en MT, presentan alteraciones electrofisiológicas durante una tarea de MT caracterizadas por:

- 1) Los potenciales relacionados a eventos y la actividad oscilatoria durante la codificación, reflejan una pobre transmisión de la información desde cortezas sensoriales a cortezas de asociación (potencial P300 y actividad oscilatoria alfa).
- 2) La actividad oscilatoria durante la mantención, refleja una compensación de los déficits de la etapa de codificación (actividad oscilatoria beta).

III. OBJETIVOS.

1.- Objetivos Generales.

- Evaluar medidas conductuales de la memoria de trabajo en pacientes con esclerosis múltiple y controles sanos.
- Evaluar medidas electrofisiológicas bajo tareas que midan memoria de trabajo en pacientes con esclerosis múltiple y controles sanos.

2.- Objetivos Específicos.

- Evaluar los tiempos de respuesta y la razón de los aciertos en sujetos con esclerosis múltiple y controles normales, bajo una modificación del paradigma Sternberg task, que mide memoria de trabajo.
- Estudiar el componente P300 de los potenciales relacionados a eventos en sujetos con esclerosis múltiple y controles normales, bajo una modificación del paradigma de Sternberg task.
- Estudiar el patrón de frecuencias en cartas tiempo/frecuencia de los sujetos con esclerosis múltiple y controles sanos, durante las distintas etapas del paradigma modificado de Sternberg task.

IV.- MATERIALES Y METODOS

1.- Sujetos

Basado en el trabajo de Gaspar et al[44], en el cual se mostró una disminución del componente P300 frente a mayor carga de MT tanto para sujetos sanos como pacientes con esquizofrenia, se determinó que el tamaño muestral requerido corresponde al menos a 12 sujetos por grupo, con el fin de obtener un poder estadístico alpha de 5% y un poder (1-beta) del 10%.

La muestra estuvo compuesta por 12 pacientes con Esclerosis Múltiple del tipo “remitente recurrente” en etapa temprana (Tabla 1), diagnosticados por un neurólogo especialista en el área del Departamento de Neurología del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Se excluyeron pacientes con alteraciones visuales no corregibles, con historia de traumatismos encefalocraneanos, patologías neurológicas y/o siquiátricas y abuso o consumo regular de drogas o alcohol.

El grupo control estaba compuesto de 12 voluntarios sanos, comparables en edad, sexo, preferencia manual y nivel educacional (Tabla 1). Así como en el grupo de pacientes con EM, se excluyeron los sujetos sanos con alteraciones visuales no corregibles, con historia de patologías neurológicas y/o siquiátricas, traumatismos encefalocraneanos y abuso o consumo regular de drogas o alcohol.

Todos los sujetos entregaron el consentimiento informado firmado, previo a la participación en el estudio (Anexo N°1).

Todos los procedimientos del estudio fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Tabla 1. Datos Demográficos y clínicos de controles sanos y pacientes con EM (RR)

	Pacientes con EM	Controles
	N=12	N=12
Edad, años	29,16 (4,30)	27 (5,42)
Años de educación	17 (1)	17,08 (1,24)
Duración de la enfermedad, meses	47,8 (38,09)	-
PASAT	-1 (1,36)	-
SDMT	-0.06 (1,08)	-

Abreviaciones: EM (RR)- Esclerosis múltiple del tipo relapsing-remitting; PASAT- Paced Auditory Serial Addition Task evalúa atención, velocidad de procesamiento de la información y memoria de trabajo; SDMT – Symbol Digit Modalities Test evalúa atención, velocidad de procesamiento de la información y memoria de trabajo.

2.- Paradigma experimental

Se empleó una modificación del paradigma de Sternberg’s Memory Scanning task[52], [53] descrito por Jensen et al[47]. La tarea consistió en presentar visualmente al sujeto, una lista de consonantes de forma simultánea y desplegadas en un arreglo circular (con un espacio en blanco entre caracteres adyacentes), en un monitor de computador ubicado a 57 cm. del sujeto. Cabe destacar que la letra “Y” no fue incluida en el set de memoria (S) para evitar la generación de vocablos que pudiesen ser utilizados como pistas por los sujetos. Cada arreglo de letras fue presentado en forma circular, con un signo “+” en el centro del arreglo. Este signo fue además utilizado como punto de fijación en el período de retención y respuesta.

El set de memoria (S) contempló grupos de dos, cuatro o seis consonantes dispuestas circularmente alrededor del punto de fijación ubicado al centro de la pantalla (Figura 1).

De esta forma, se espera compensar el efecto que puedan tener los movimientos sacádicos

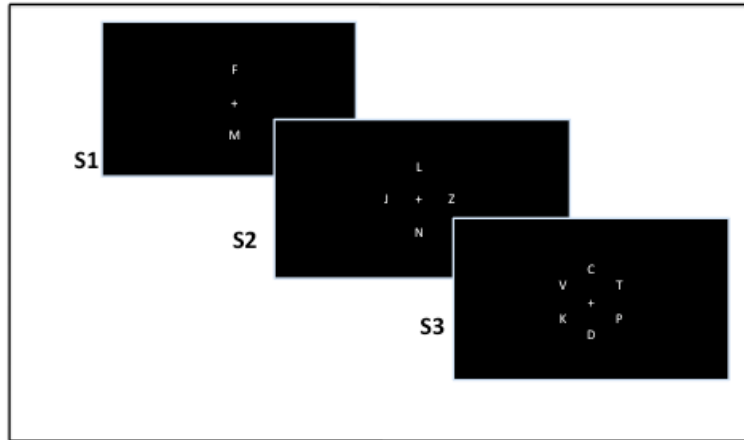


Figura 1. Esquema del set de memoria

En la tarea experimental esquematizada en la Figura 2, cada set de memoria (S) fue presentado durante 1800 ms. (período de codificación), seguido de una pantalla negra con el signo de fijación (período de retención) de 2000 ms. en la cual, el punto de fijación fue reemplazado por un estímulo objetivo durante 1000 ms. (período de reconocimiento).

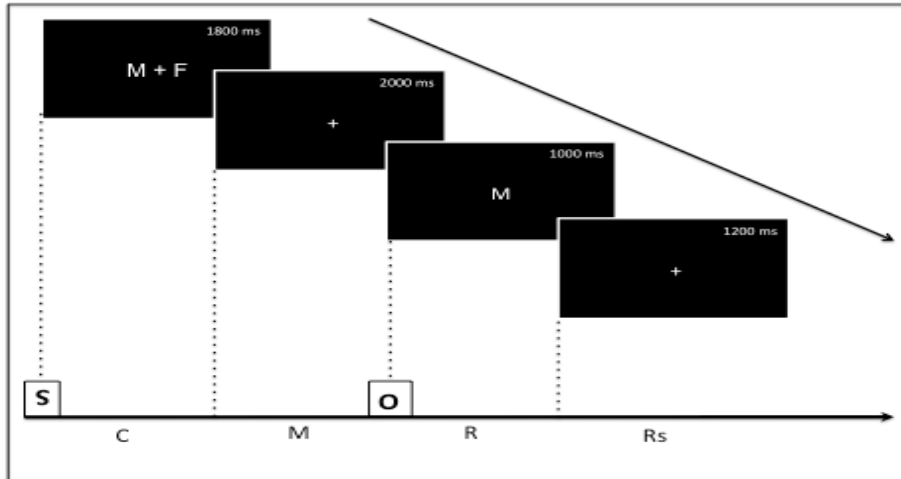


Figura 2. Esquema de la tarea experimental, modificación de la Sternberg's Memory Scanning Task (SMS-Task) descrito por Jensen et al(2002). S: presentación del set de memoria, C: período de codificación, M: período de mantención, O: presentación del estímulo, R: período de recuperación, Rs: respuesta del sujeto.

Finalmente, a través de un dispositivo de respuesta, los sujetos debieron indicar si el estímulo objetivo estaba presente o ausente en el set de memoria (presionando lo más rápido posible el botón derecho o izquierdo), utilizando la mano derecha e izquierda de forma alternada. El tiempo disponible para la respuesta correspondió a 1200 ms. (período de respuesta).

Cada sujeto debió responder 270 ensayos (90 ensayos para cada set de memoria) presentados en forma aleatoria. Inicialmente, los ensayos se presentaron en dos bloques principales divididos por una pausa, en la cual, los sujetos podían descansar, lo cual fue regulado por el propio sujeto. Además cada bloque principal estuvo constituido por 15 sub-bloques, formado por 9 ensayos cada uno.

Tanto la presentación de los estímulos como el registro de las respuestas de las pruebas, se realizó con el Software Presentation® (Versión 13.0, www.neurobs.com).

3.- Registro y análisis electrofisiológico

La metodología señalada a continuación, corresponde a parte de los procedimientos estandarizados para el análisis de señales electroencefalográficas del Laboratorio de Neurociencias Cognitivas de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Se utilizó un sistema de posicionamiento rápido de electrodos de Ag/AgCl consistentes en una configuración espacial extendida del sistema 10/20, en un montaje de 40 electrodos (Quik-Cap, Neuromedical Supplies), y un gel conductor para reducir la impedancia de la interfase piel-electrodo (Quik-Gel, Neuromedical Supplies). La impedancia se mantuvo bajo los 5 KOhms. para optimizar la relación señal ruido del registro. Se utilizó un canal bipolar para registrar electro oculograma vertical (EOGV), y otro para el registro de electro oculograma horizontal (EOGH). Como referencia se utilizó el promedio de 2 electrodos situados sobre los mastoides. Para la recolección de datos, se utilizó un amplificador de 40 canales (Nuamps, Neuroscan Inc.) y el programa Scan 4.3 (Neurosoft Inc.) para el procesamiento previo. La señal fue adquirida desde el DC hasta 100 Hz y la frecuencia de digitalización será de 1000 Hz. El filtrado aplicado a la señal continua previo al análisis de datos fue: pasa-banda entre 0.1 Hz (24 dB/Oct) y 100 Hz (24 dB/Oct), con un filtro de Butterworth, FIR que no genera cambios de fase. El EEG fue adquirido continuamente y se segmentó para la promediación posterior en dos intervalos diferentes. El primero fue entre los 500 ms previo a la aparición de la secuencia de consonantes, hasta los 3800 ms. posteriores y contuvo la información relacionada a los procesos de codificación y retención de memoria de trabajo. El segundo consideró los 500 ms. previo a la aparición del estímulo objetivo hasta los 3000 ms posteriores, de esta forma, se evaluó la actividad cerebral asociada a la recuperación y a la respuesta de los sujetos. La eliminación de los artefactos de pestañeo, se realizó usando

el canal FP1 con un umbral a determinar. Una vez obtenidos los componentes específicos asociados al pestañeo, éstos fueron eliminados del registro de los sujetos usando análisis de componentes principales (PCA) por descomposición de valores singulares (SVD) y un filtro espacial. Luego, los registros fueron sometidos a una inspección visual en busca de ensayos con artefactos remanentes para descartarlos del análisis.

Los segmentos libres de artefactos fueron promediados para obtener los ERPs y finalmente se realizaron los análisis de tiempo – frecuencia. Para esto último se realizó una transformación usando Morlet Wavelets de 5 ciclos.

Para todos estos análisis se utilizó Matlab versión 7.0.4 R14 (The Mathworks, Inc.), con rutinas elaboradas en el Laboratorio de Neurociencias Cognitivas de la Pontificia Universidad Católica de Chile (<http://lantoolbox.wikispaces.com>).

4.- Análisis estadístico

Para el estudio de los resultados conductuales se realizó un análisis de los tiempos de reacción y la razón de aciertos durante la ejecución de los diferentes sets de memoria (2, 4 y 6 consonantes), que representan las diferentes cargas de la MT durante el Test Modificado de Sternberg, usando R 2.11.1 (<http://www.r-project.org>). Para ello, se utilizó un análisis de varianza (de medidas repetidas y mixta) evaluando previamente la normalidad de la distribución de los datos usado el test de Shapiro. Como análisis post-hoc se realizó test pareado y no pareado de Wilcoxon corrigiendo por comparaciones múltiples usados False Discovery Rate ($q < 0.05$).

Para el análisis electrofisiológicos, al comparar las diferencias entre el grupo de pacientes y el de controles, para las diferentes cargas de memoria, se utilizó el test de Friedman y luego corrección para comparaciones múltiples usando el test de permutaciones basada en clúster. Para esto, los datos fueron llevados a una matriz de 3 dimensiones XYZ, donde XY correspondió al plano de la ubicación espacial de los electrodos en un arreglo bidimensional y Z al tiempo. Las regiones con diferencias significativas de esta matriz fueron corregidas usando el test de permutaciones basado en clusters[61]. En este procedimiento se definieron clústeres de significancia definidos por la agrupación de puntos adyacentes de la matriz que presentan un valor p menor a 0.05 . La significancia a nivel del clúster fue definida por la suma del valor del test estadístico de cada punto del clúster. Posteriormente, la posibilidad de encontrar falsos positivos fue controlada calculando la significancia del clúster completo mediante una distribución nula aleatoria basada en el clúster con mayor valor del test estadístico. Esta distribución nula fue obtenida mediante la permutación aleatoria sin reposición de las condiciones por cada sujeto, eliminando así toda diferencia sistemática entre condiciones. El número de ensayos por condición por sujeto se mantuvo constante para controlar posibles diferencias debidas al número de ensayos entre condiciones. Después de cada permutación se realizó un test original (Por ejemplo, Friedman test). Luego de 1.000 permutaciones, la significancia a nivel del clúster fue estimada por la proporción de elementos de la distribución aleatoria nula mayores o iguales a la significancia observada a nivel del clúster.

Para el análisis tiempo frecuencia se realizó el método descrito anteriormente con la salvedad que se agrega una cuarta dimensión que incluyó los valores de frecuencia obtenidos anteriormente por el método de wavelets.

V.- RESULTADOS

1.- Resultados Conductuales

Se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los tiempos de reacción en relación al aumento en la carga de memoria de trabajo para ambos grupos ($F_2=19.8$, $p=2e-5$). Sin embargo, no se observan diferencias entre el grupo de controles sanos y el grupo de pacientes con EM ($F_2=1.2$, $p=0.28$).

Se observan diferencias significativas en los tiempos de reacción, dependiente de la presencia del estímulo objetivo ($F_1=11.7$; $p=0.0027$). Sin embargo, no se observan diferencias entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de sujetos sanos ($F_2=0.0$; $p=0.96$).

En el caso de las respuestas correctas de los sujetos, se encuentran diferencias significativas en relación a la carga de memoria ($F_2=45.07$; $p=1.5e-6$), pero no se observan diferencias entre ambos grupos ($F_2=0.03$; $p=0.84$).

En el caso de las respuestas correctas de los sujetos dependientes de la presencia del estímulo objetivo, se encuentran diferencias significativas ($F_2=76.12$; $p=2.9e-08$), pero no se hayan diferencias entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de sujetos sanos ($F_2=3.23$; $p=0.08$).

En el caso de las respuestas correctas de los sujetos dependientes de la presencia del estímulo objetivo y la carga de memoria, se observan diferencias significativas ($F_2=12.25$; $p=0.002$), encontrándose diferencias entre el grupo de sujetos sanos y el grupo de pacientes con EM ($F_2=4.38$; $p=0.049$)**.

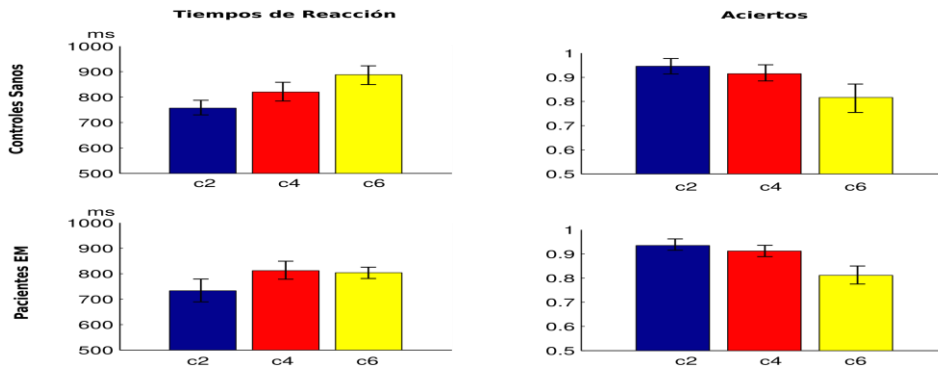


Figura 3. Tiempos de reacción y aciertos para las diferentes cargas de memoria (c2: 2 consonantes; c4: 4 consonantes; c6: 6 consonantes) en el grupo de controles sanos y el grupo de pacientes con EM.

2.- Resultados Electrofisiológicos

2.1.- Potenciales relacionados a eventos (ERP)

Etapa de codificación:

En esta primera instancia, se estudiaron los ERP relacionados a la etapa de codificación que corresponde a la primera etapa de la memoria de trabajo, cuya duración es de 1800 ms. En este proceso, se presenta el estímulo que el sujeto debe memorizar. En este caso, se cuenta con tres condiciones de carga de memoria de trabajo: baja (2 consonantes), moderada (4 consonantes) y alta (6 consonantes).

Se puede observar que las latencias de P2 están moduladas, en forma significativa, por la carga de memoria tanto para el grupo de pacientes con EM como para el grupo de sujetos sanos (Carga, $F_2=10.464$; $p=0.0001$) (Figura 4A y 4B). Sin embargo, no se encuentran diferencias significativas entre ambos grupos (Grupo, $F_2=0.277$; $p=0.60$; Grupo*Carga, $F_2=1.815$, $p=0.17$).

Además, se puede apreciar que las amplitudes de P2 del grupo de controles sanos presentan un incremento en la medida que aumenta la carga de memoria, sin embargo, esta tendencia observada no es significativa (Carga, $F_2=1.8$; $p=0.17$) (Figura 3A y 3B). Por otra

parte, no se observan diferencias significativas en las amplitudes de P2 entre ambos grupos (Grupo, $F_2=0.009$; $p=0.92$; Grupo*Carga, $F_2=0.348$; $p=0.7$).

Al observar la distribución topográfica de P2, se aprecia un patrón frontocentral tanto para el grupo de sujetos sanos como para el grupo de pacientes con EM y no se observan grandes diferencias entre ambos grupos (Figura 4A y 4B).

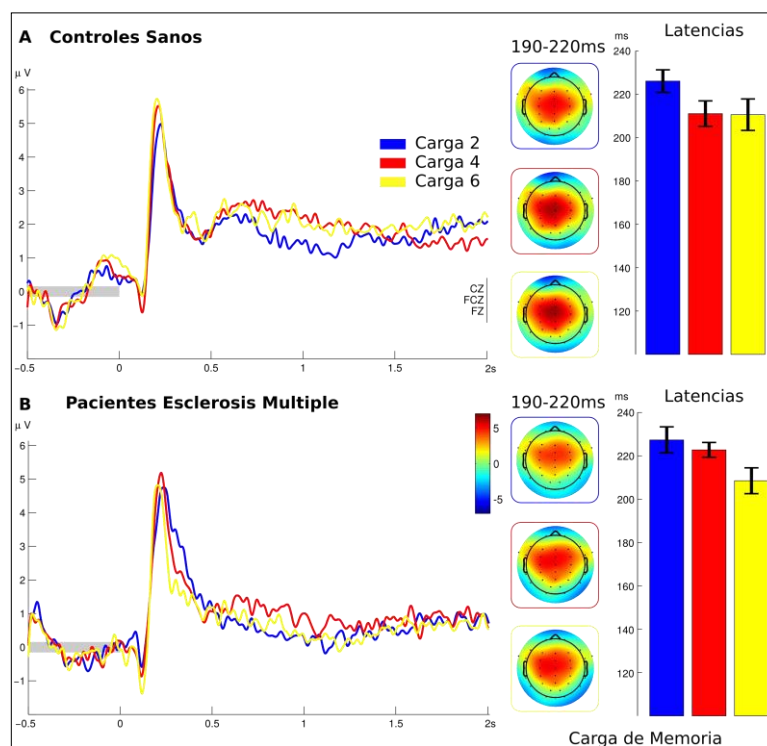


Figura 4. ERP componente P2 durante la etapa de codificación de una tarea de memoria de trabajo de Sternberg en los electrodos FZ, FCZ y CZ. (A) Controles sanos. (B) Pacientes con EM.

En cuanto a las amplitudes de P3, no se observan diferencias significativas entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de controles sanos (evaluando el máximo valor por sujeto entre 300 – 600 ms después de la aparición del estímulo). Tampoco se aprecia una modulación significativa de las amplitudes de P3 en relación a la carga de memoria para ninguno de los dos grupos (Figura 5).

En relación a las latencias de P3, no se aprecian diferencias significativas entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de controles sanos. Además, no se ve una modulación significativa de las latencias de P3 por la carga de memoria para ninguno de los grupos (Figura 5).

Al observar la distribución topográfica de P3, se puede apreciar un patrón de activación en la región central y posterior tanto para el grupo de sujetos sanos como para el grupo de pacientes con EM. El grupo de pacientes con EM presenta una tendencia a la disminución de esta actividad a medida que aumenta la carga de memoria, sin embargo, esta tendencia no es significativa, mientras que el grupo de controles sanos mantiene un patrón de activación similar independiente del incremento de la carga de memoria (Figura 5).

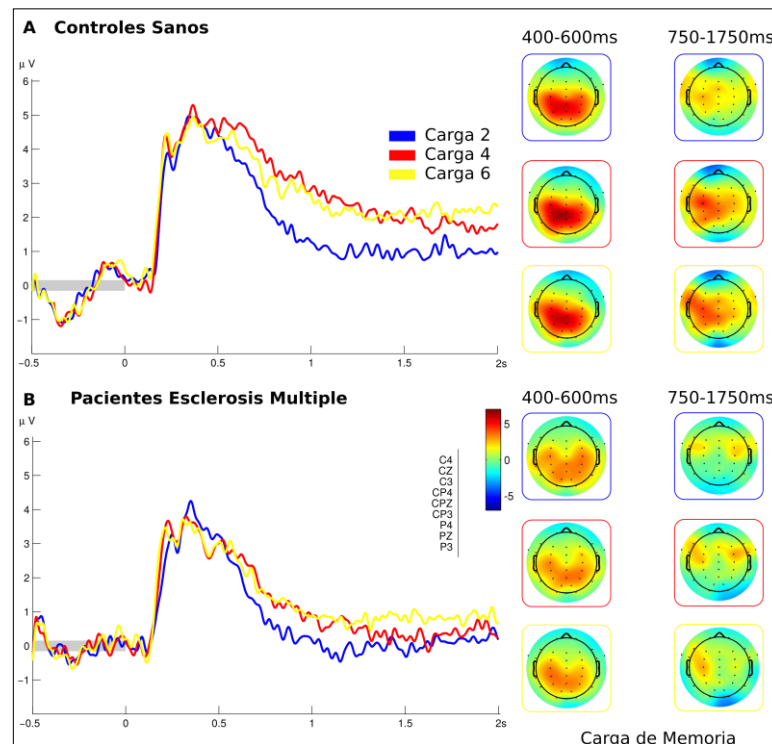


Figura 5. ERP componente P3 y potenciales tardíos durante la etapa de codificación de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg en los electrodos C4, Cz, C3, CP4, CPZ, CP3, P4, Pz y P3. (A) Controles sanos. (B) Pacientes con EM.

Se pudo apreciar que las amplitudes de los potenciales tardíos se incrementaron, en forma significativa, al aumentar la carga de memoria (Carga, $F_2= 4.36$; $p =0.01$, Carga*Grupo, $F_2=1.23$, $p=0.3$), tanto para el grupo de controles sanos como para el grupo de pacientes con EM (Figura 5). Además el grupo de controles sanos alcanzó amplitudes significativamente mayores que el grupo de pacientes con EM (Grupo, $F_2=4.41$; $p =0.047$) (Figura 5).

Al observar la distribución topográfica de los potenciales tardíos, en el grupo de sujetos sanos se aprecia un mayor patrón de activación en la región frontocentral y lateralizado a izquierda, principalmente en la condición de moderada carga de memoria (Figura 5A).

En el caso de los pacientes con EM, la distribución topográfica presenta un menor patrón de activación en relación a los sujetos sanos, presentando una distribución bilateral principalmente para la condición de moderada carga de memoria (Figura 5B).

Posteriormente, se realizó la diferencia entre cargas de memoria moderada y baja entre ambos grupos, para observar el efecto de carga de memoria. Al comparar el grupo de sujetos sanos con el grupo de pacientes con EM, se observa que el primer grupo presenta una mayor amplitud en la etapa de codificación en los electrodos C3, CZ, CP3, CPZ, P3 y PZ durante la tarea de memoria de trabajo (Figura 6).

Al observar la distribución topográfica de la diferencia entre moderada y baja carga de memoria entre ambos grupos, se puede ver que el grupo de controles presenta un incremento de la actividad en la región central y posterior con lateralización a izquierda, en comparación al grupo de pacientes con EM (Figura 6).

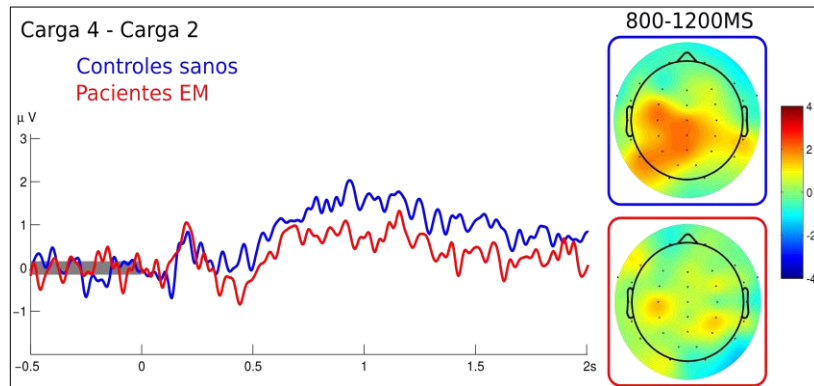


Figura 6. Diferencia entre las condiciones moderada y baja carga de memoria de los potenciales tardíos entre controles sanos y pacientes con EM.

Etapas de mantención y recuperación

No se observaron diferencias en las amplitudes ni en las latencias en los ERPs en estas etapas de la memoria de trabajo entre el grupo de controles sano y pacientes con EM. Tampoco se observaron modulaciones de los ERPs en relación a la carga de la memoria de trabajo.

2.2.- Análisis Tiempo-Frecuencia

Se puede observar una disminución del poder alfa (8-15 hz) en la región occipital, tanto para el grupo de pacientes con EM como para el grupo de controles sanos en la etapa de codificación de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg modificado (Figuras 7-8).

2.2.1 Etapa de codificación:

En cuanto a la modulación de esta actividad alfa en la etapa de codificación, se aprecia que a medida que aumenta la carga de memoria, se genera una disminución de la actividad de mayor duración (Figuras 7-8).

Esta modulación es significativamente mayor en la etapa final de la codificación y se extiende hasta la primera etapa de la mantención. Estas diferencias se pueden observar en ambos grupos, pero son significativamente mayores en el grupo de controles sanos (Figuras 7-8-10).

2.2.2 Etapa de mantención:

En esta etapa, en el caso de los controles no se observan otras modulaciones en relación a la carga de la memoria de trabajo. En cuanto a los pacientes con EM, se observa una tendencia no significativa al aumento de la actividad alfa al final de la mantención e inicio de la recuperación (Figuras 7-8).

2.2.3 Etapa de recuperación:

En esta etapa, en el caso de los controles se observa una modulación de la actividad theta posterior a la presentación del estímulo de reconocimiento (probe), a medida que aumenta la carga de la memoria de trabajo la actividad theta va disminuyendo. En cuanto a los pacientes con EM, se observa una modulación de la actividad theta en la relación a la carga de la memoria de trabajo que comienzan en la etapa final de mantención, sin embargo estas diferencias no son significativas (Figuras 7-8).

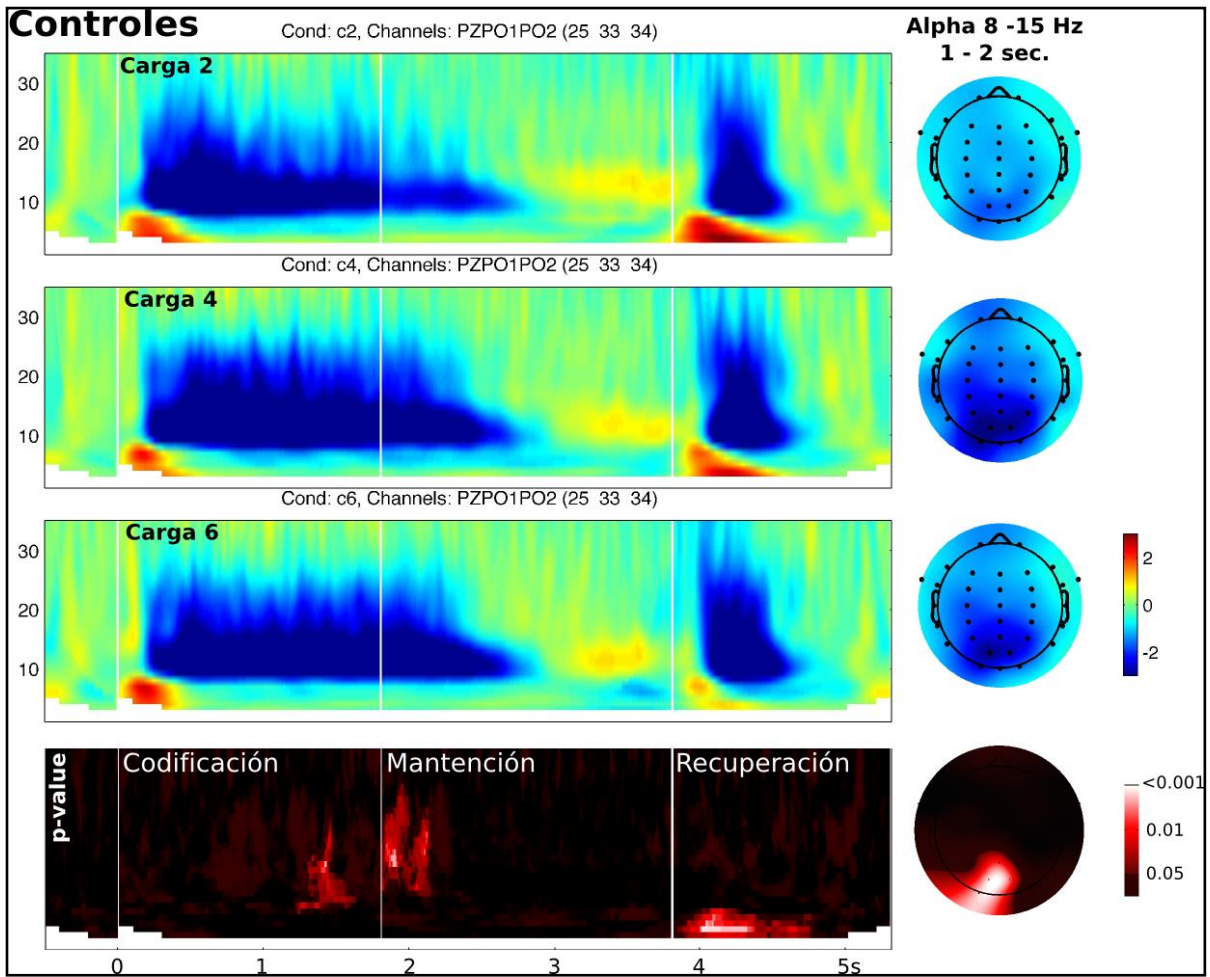


Figura 7. Análisis tiempo-frecuencia de controles sanos para las condiciones alta, moderada y baja carga en las distintas etapas de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg.

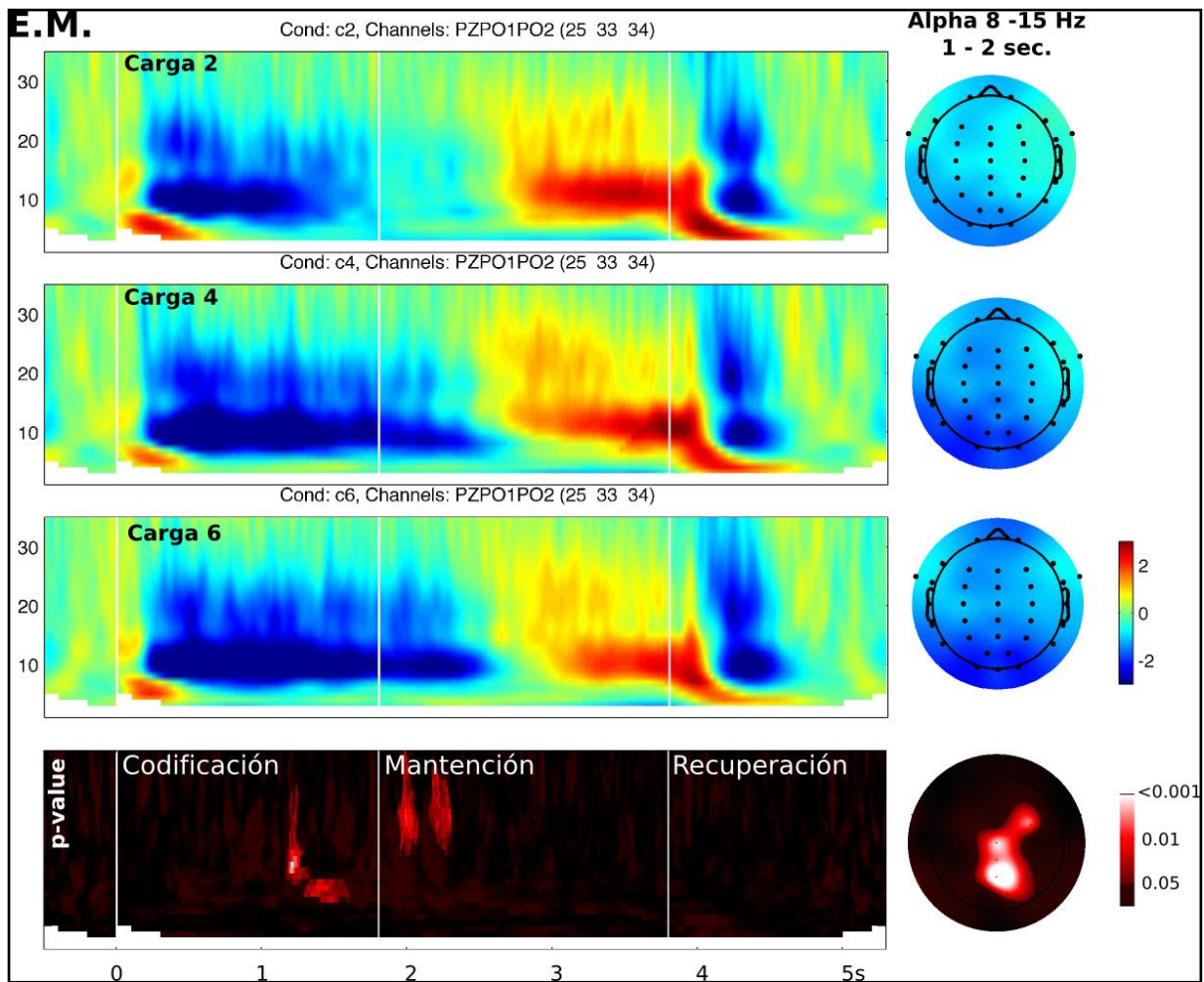


Figura 8. Análisis tiempo-frecuencia de pacientes para las condiciones alta, moderada y baja carga en las distintas etapas de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg.

2.2.4. Diferencia entre pacientes con EM y controles sanos:

Etapa de mantención (Figura 9):

Al observar el contraste entre ambos grupos para cada condición de carga de memoria, se puede mencionar que hay un aumento de la actividad beta para todas las condiciones de carga de memoria, siendo más acentuada para la condición de moderada carga. La distribución topográfica de la actividad beta, se localiza en la región central principalmente para las condiciones de mayor carga.

En cuanto a la actividad alfa, se distingue un aumento consistente de la actividad alfa en la fase inicial de esta etapa para todas las condiciones de carga de memoria.

Etapa de recuperación (Figura 9):

Al apreciar el contraste entre ambos grupos para cada condición de carga de memoria, se observa un aumento de la actividad alfa para todas las condiciones de carga de memoria, pero no se aprecia modulación por la carga de memoria. Mientras que el aumento de la actividad beta, sólo se distingue para las condiciones de mayor carga de memoria.

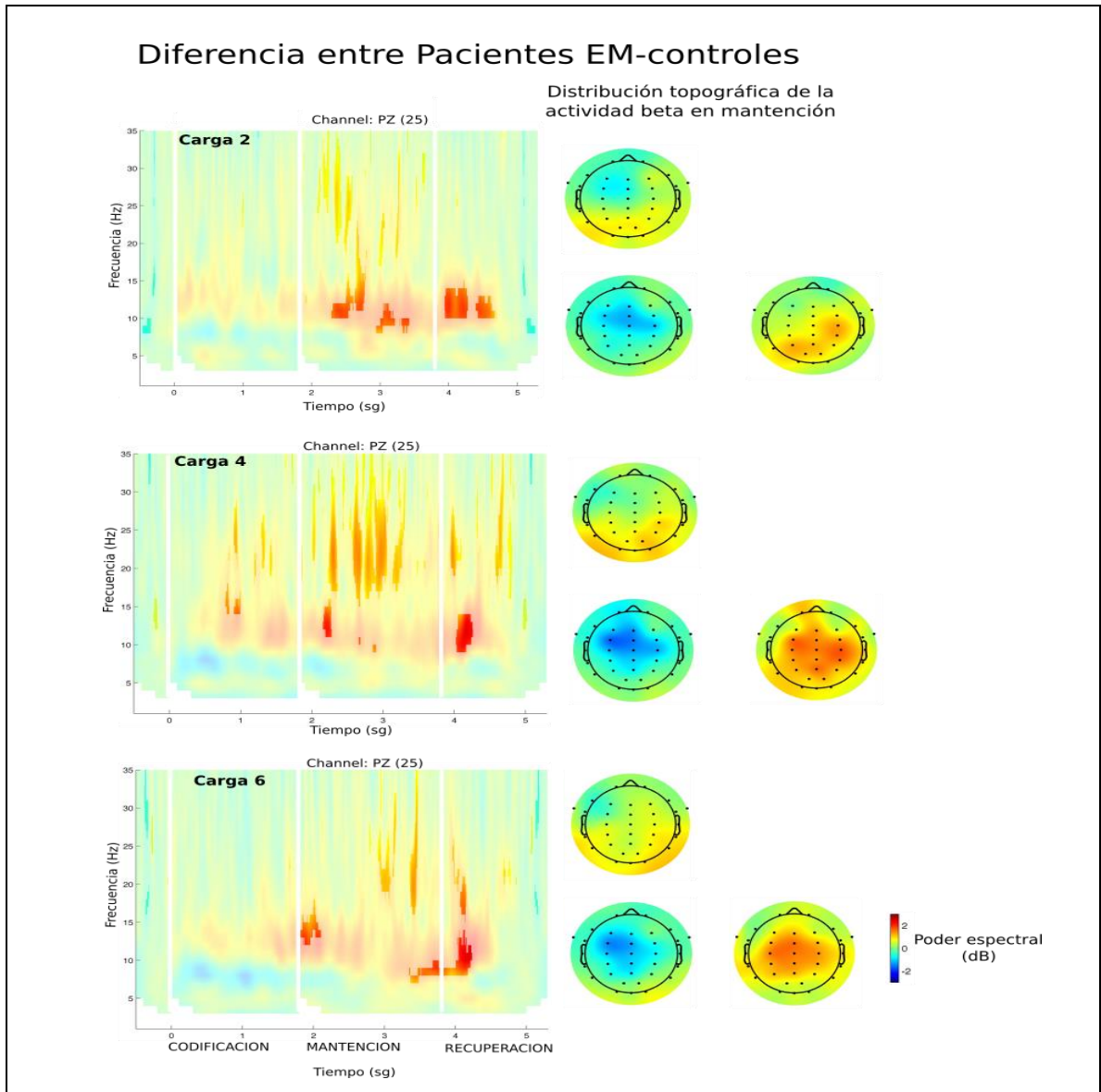


Figura 9. Análisis tiempo-frecuencia de la diferencia entre pacientes con EM y controles para todas las condiciones de carga de memoria en las distintas etapas de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg.

2.2.5 Diferencia para las condiciones de moderada y baja carga entre pacientes con EM y controles sanos:

Además, se contrastó la diferencia para las condiciones de carga de memoria moderada y baja entre el grupo de controles sanos y pacientes con EM, y se puede apreciar una disminución de la actividad alfa para ambos grupos, siendo mayor en los pacientes con EM y

encontrándose una diferencia significativa entre ambos grupos en la etapa final de la codificación (Figura 10).

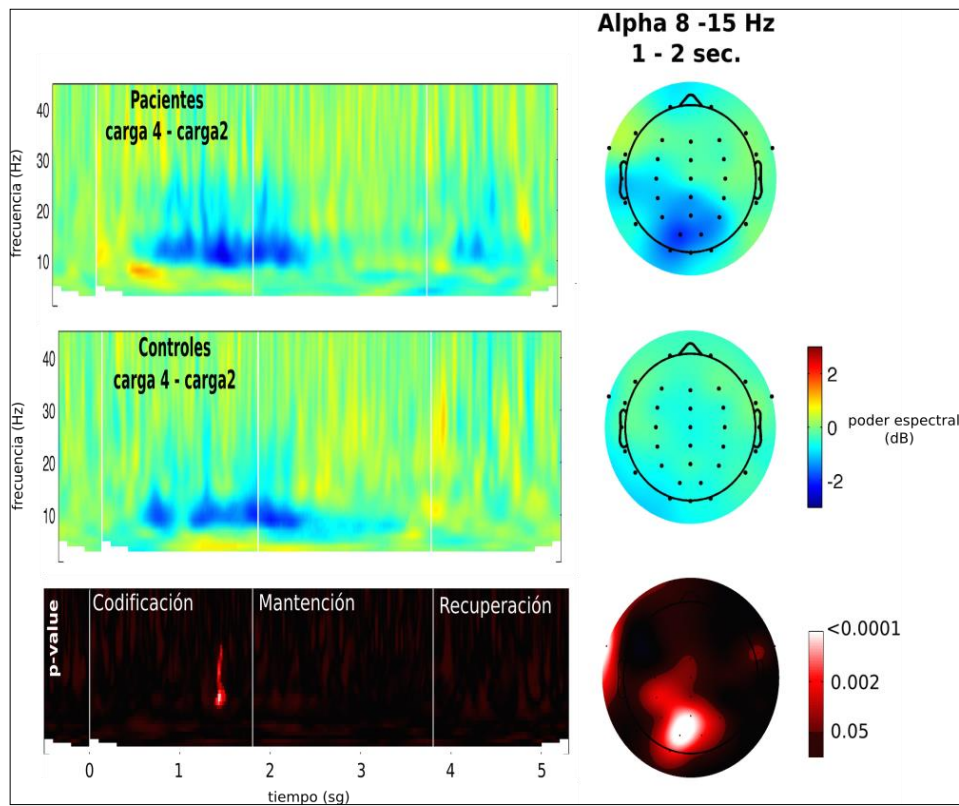


Figura 10. Análisis tiempo-frecuencia para la diferencia entre moderada y baja carga entre el grupo de controles sanos y los pacientes con EM para las distintas etapas de la tarea de memoria de trabajo de Sternberg.

3.- Correlaciones

Se analizaron las correlaciones entre las diferentes variables de este estudio, a través del Test de Correlación de Spearman, sin evidenciarse correlaciones significativas.

Sólo se observaron tendencias no significativas entre la caída del poder alfa-beta en el período de codificación de la tarea de memoria de trabajo del paradigma de Sternberg modificado y el mayor desempeño en la prueba de “Serial Digital Test”(SDMT) ($\rho = -0.57$; $p = 0,2$; $n = 7$). Además se observó una tendencia no significativa entre la caída de este poder a mayores tiempos de reacción ($\rho = -0.43$; $p = 0.16$; $n = 12$).

VI. DISCUSION

1) Resultados conductuales:

Al comparar los resultados conductuales entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de sujetos sanos, no se aprecian diferencias significativas entre ambos grupos, tanto para el número de respuestas correctas como para los tiempos de reacción. Lo cual podría estar dado por la baja carga lesional de los pacientes participantes, manifestándose en una mínima discapacidad neurológica y una capacidad cognitiva preservada o un leve deterioro de ésta, como lo reportado por Olivares y col [62], en cuyo trabajo no se encuentran diferencias en sus resultados conductuales al comparar pacientes de similares características, es decir, del tipo “relapsing-remitting” a pesar de las diferentes pruebas utilizadas en la evaluación de memoria de trabajo (Auditory Trials A, Digit Span or Visual Memory Span, PASAT).

Por otra parte, en otros trabajos se reportan diferencias entre grupos de pacientes con EM y controles sanos, lo que podría deberse al tipo de pacientes con EM utilizados. En dichos reportes se utilizaron pacientes con EM de distintos subtipos, que presentan manifestaciones más severas tanto en la esfera cognitiva como en la física [63]–[67].

Como era de esperar, se pudo ver el efecto modulador de la carga de memoria para los tiempos de reacción como para el número de errores, ya que al incrementarse la carga se produjo un aumento de ambas variables. Sin embargo, no observamos diferencias significativas entre ambos grupos, como lo descrito por Amann y cols. [68]. Estas observaciones podrían deberse a lo planteado anteriormente, en cuanto, al tipo de pacientes participantes quienes presentarían baja carga lesional permitiéndoles un desempeño cognitivo similar a los controles sanos. Según lo informado por Covey y cols. [67], quien estudió las alteraciones cognitivas (memoria de trabajo, velocidad de procesamiento y funciones ejecutivas) y su relación con el daño estructural cerebral, a medida que aumentaba la carga de

memoria los pacientes con EM se volvían más lentos y menos precisos, lo cual se asociaba al daño cerebral global (atrofia de la sustancia blanca y gris).

Otro factor que puede influir en los resultados obtenidos, es la amplia variabilidad en el tiempo de evolución de la enfermedad, ya que nos encontramos con pacientes que presentan sólo algunos meses de diagnóstico de EM, mientras otros presentan años, por lo que permite que las mayores alteraciones sean contrarrestadas con los pacientes de menor evolución, como lo observado en el trabajo de Deloire y cols. [66], quien reportó en un estudio de seguimiento de 1, 2, 5 y 7 años, que los principales predictores imaginológicos de cambios cognitivos, obtenidos por resonancia magnética, se relacionaban con el daño en el tejido cerebral basal y atrofia cerebral progresiva.

2) Resultados Electrofisiológicos:

En cuanto a los resultados electrofisiológicos de las evaluaciones cognitivas de los pacientes con EM versus controles sanos, no se han reportado resultados consistentes. Por una parte, algunas investigaciones han señalado un aumento en las latencias de los componentes N1, P2, N2 y P3 [69]; otros autores han indicado un aumento de éstas, sólo en los componentes de P2, N2 y P3 [54], [70]; en otro trabajo también se reportó un aumento de la latencia y una disminución en la amplitud de P300 [71], mientras que otro autor indica que no se observaron variaciones en las latencias de P3 [72], por otra parte, en otra investigación se señala que no hay diferencias en los componentes [73]

El componente P2 ha sido asociado con la detección y análisis de las características de los estímulos en tareas relevantes [74], lo cual se llevaría a cabo en regiones frontales, probablemente en la región orbitofrontal [74], [75]. Estas observaciones son consistentes con los resultados obtenidos en nuestro estudio, en el cual se puede observar que la distribución

topográfica de P2 presenta un patrón activación positiva en las regiones frontales y centrales, sin observarse grandes diferencias entre el grupo de pacientes con EM con el grupo de controles sanos.

Se ha reportado que en los potenciales relacionados a eventos de tipo visuales, los componentes tempranos como P1 y N1 están relacionados a tareas de tipo atencional, mientras que el componente P2 participaría en la función de memoria de trabajo [76], [77], específicamente en la etapa de codificación [77]. Lo cual es consistente con lo observado en nuestro trabajo, en que se aprecia un incremento significativo de las latencias a medida que aumenta la carga de memoria en la etapa de codificación, para ambos grupos, como lo reportado por Koychev y cols. [78], quien también observó efectos significativos de la carga de memoria sobre las latencias de P2 en la etapa de codificación en una tarea de memoria de trabajo. Sin embargo, no pudimos observar diferencias significativas entre ambos grupos, como lo reportado por algunos autores [54], [79], [80], quienes si observaron diferencias en las latencias entre pacientes con EM y controles sanos, esto puede deberse a la etapa temprana de los pacientes con EM que hemos analizado.

Los resultados observados en nuestro trabajo, en cuanto a las latencias y amplitudes de P2, nos hace suponer que este componente no es sensible en esta etapa de la enfermedad para observar diferencias electrofisiológicas entre los pacientes con EM y controles sanos, lo que probablemente puede estar dado por la baja carga lesional que presentan en esta etapa fase de la EM. Además, estos hallazgos indican que en el estado de la EM que estudiamos, no hay un déficit en el procesamiento temprano de los estímulos ni en su entrada a la etapa de codificación.

En relación al componente P3, no pudimos encontrar modulaciones significativas en la amplitud y la latencia de este componente dependiente de la carga de memoria para ninguno

de los dos grupos. Ya que se esperaba observar que los pacientes con EM, presentaran amplitudes significativamente menores que los controles sanos y latencias significativamente mayores, a medida que aumentaba la carga de memoria, como un reflejo del procesamiento adicional requerido para almacenar y manipular un mayor número de ítems, como lo descrito por Lefebvre y col en 2005.

Por otra parte, no pudimos observar diferencias entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de controles sanos, como se ha reportado en numerosos estudios, en cuanto a que el grupo de pacientes presentaría latencias prolongadas y menores amplitudes de P3 para tareas de memoria de trabajo [8], [54], [69], [71], [81], [82], lo que podría estar dado por el bajo número de participantes, como lo reportado por Gerschlager y col [73].

En cuanto a la distribución topográfica del componente P3, se pudo observar un patrón de activación positiva en las regiones centrales y posteriores tanto para el grupo de controles sanos como para el grupo de pacientes con EM, coherente con lo reportado en numerosos estudios [49], [83], [84], los cuales describen la máxima amplitud de P300 en la región parietal. Este componente se considera que refleja la actualización del contexto de la tarea [84] y/o la categorización de eventos relevantes para la tarea [81], [85].

En cuanto a los potenciales tardíos, es aceptado que representan la finalización de cualquier actividad sincronizada que ocurre inmediatamente después de la detección del objetivo (reprocesamiento)[63]. Además se ha sugerido que este potencial se ha relacionado con la MT [63], [86]. En cuanto a la localización anatómica de la actividad neuronal responsable de estos potenciales tardíos, se sugieren variadas estructuras cerebrales que incluyen regiones frontales, temporales y parietales superiores, las cuales se han señalado que forman parte de la red que participa en las tareas de MT[63].

Basándonos en nuestros resultados, podemos señalar que los potenciales tardíos pueden constituir un buen indicador neurofisiológico de la etapa de codificación de la memoria de trabajo, ya que pudimos observar que la amplitud se encuentra modulada por la carga de memoria, tanto para el grupo de controles sanos como para el grupo de pacientes con EM. Al igual que lo reportado por varios estudios [76], [87], los cuales señalaron que los potenciales tardíos estaban asociados a la MT y además indicaron que éstos pueden actuar como marcadores neurofisiológicos para la evaluación de la capacidad de la MT, ya que el aumento observado en sus amplitudes ocurre a medida que se incrementan las cargas de memoria, lo que interpretaron como un reflejo del procesamiento adicional relacionado al número ítems [76]. Por otra parte, podemos indicar que estos potenciales tardíos pueden constituir una herramienta sensible para estudiar las alteraciones de la etapa de codificación en la MT en los pacientes con EM en esta etapa temprana de su enfermedad, ya que este grupo obtuvo una modulación en sus amplitudes significativamente menores que los controles.

Además la distribución topográfica de los potenciales del grupo de controles sanos, se concentra en las regiones fronto-centrales, siendo lateralizada a izquierda principalmente para la condición de moderada carga de memoria, la cual podría corresponder con uno de los dos sistemas de almacenamiento, propuesto por Baddeley [29], en este caso el loop fonológico, dado por las características de los estímulos utilizados en nuestro trabajo (consonantes). Estudios de neuroimágenes de MT verbal han indicado la participación de las cortezas parietales inferiores (Brodmann 40) en el componente de almacenamiento del loop fonológico y las cortezas prefrontales ventrolaterales (Brodmann 44 o área de Broca) para el componente de repetición (“rehearsal”) [64]. Estos estudios han mostrado evidencia del alto grado de

interconexión entre estas cortezas, así como con la corteza prefrontal y la corteza cingulada anterior, por tractos de sustancia blanca.

Sin embargo, la distribución topográfica de los potenciales tardíos del grupo de pacientes con EM para la condición de moderada carga, presenta una menor activación y una distribución bilateral, lo que podría estar dado por alteraciones en la conectividad dentro de la red de la memoria de trabajo, ya que se han reportado alteraciones en las organizaciones topológicas de las redes de la sustancia blanca en pacientes con EM [88]–[92]. Así, usando técnicas de tractografía y análisis teóricos de grafos, Shu y col [91] demostraron una eficiencia reducida en las redes cerebrales de estos pacientes, con deficiencias más pronunciadas en los sistemas sensoriomotores, visuales, lenguaje y redes por defecto.

Para ver los efectos de la carga de memoria para la condición de moderada carga, en la cual se ven los principales efectos de ésta, procedimos a realizar la diferencia entre las condiciones de moderada y baja carga de memoria. En este análisis pudimos observar que el grupo de controles sanos alcanza amplitudes significativamente mayores que los pacientes durante toda la etapa de codificación, como lo reportado por Sfgos y col [63], quienes observaron una reducción del componente P6 o potenciales tardíos en la región temporoparietal izquierda para tareas de MT de tipo auditiva, y lo asociaron a alteraciones en la finalización de la etapa de reprocesamiento.

Por otra parte, la distribución topográfica de estos potenciales difiere significativamente entre el grupo de controles sanos y el grupo de pacientes con EM. Mientras el primer grupo presenta un patrón de activación en la región central y posterior con lateralización a izquierda, por otra parte, el segundo grupo presenta un menor patrón de activación con una distribución difusa en forma bilateral, involucrando la participación de regiones más anteriores.

Posiblemente, este fenómeno puede estar dado por el reclutamiento de áreas adicionales de la red de MT, en este caso corteza prefrontal, datos ya reportados por los trabajos con resonancia magnética funcional de Au Duong y col [93], en los cuales se observa que tanto los pacientes con EM y el grupo control, presentan activación de la red de MT, pero los pacientes en etapas muy tempranas de su enfermedad, generan una modulación de la conectividad en los diferentes subsistemas de la MT, lo cual podría relacionarse con las adaptaciones del proceso cognitivo para minimizar el impacto de enfermedad. [64], [65], [67].

Las diferencias en los potenciales tardíos entre el grupo de pacientes con EM y el grupo de controles sanos, caracterizado por una menor modulación en relación a la carga de MT, las diferencias observadas en la etapa específica de la codificación y las diferencias en la distribución topográfica de la modulación en la región frontocentral y parietal que presentaron el grupo de pacientes, pueden reflejar, como lo planteado en nuestra hipótesis, las deficiencias de los pacientes con EM en el traspaso de información desde las cortezas sensoriales a las cortezas de asociación que participan en el circuito fronto-parietal que mantiene la información durante la etapa de mantención, circuito ya descrito como parte de la red de MT.

3. Análisis Tiempo-Frecuencias:

Jensen y Mazaheri [94] plantearon la hipótesis de la activación por inhibición, en la cual sostienen que un aumento de la actividad en la banda alfa refleja un proceso de inhibición de las regiones cerebrales que son irrelevantes para la realización de la tarea. En concordancia con ello, describieron el fenómeno de la desincronización o bloqueo de alfa, en el cual se observa un descenso en la actividad de la banda alfa durante la presentación de los estímulos a memorizar, lo que reflejaría la liberación de tal inhibición, permitiendo la activación de las regiones cerebrales que son relevantes para la realización de la tarea [95].

Lo anterior es consistente con nuestros resultados, ya que pudimos observar una disminución del poder de la banda alfa en la región occipital en la etapa de codificación para todas condiciones de carga de memoria, lo cual se observa tanto en el grupo de controles sanos como para el grupo de pacientes con EM.

Además se pudo observar una modulación en la duración de la caída de poder en la banda alfa dependiente de la carga de memoria, sin embargo, los pacientes con EM presentaron una menor modulación. Este fenómeno podría estar dado por la ineficiencia de los pacientes con EM en la liberación o disminución de esta inhibición, impidiendo la óptima transferencia de información desde las cortezas sensoriales a las cortezas de asociación.

Por otra parte, en los pacientes con EM en la etapa de mantención se aprecia un aumento de la actividad alfa y beta en la región central, relacionado con las redes fronto-parietales asociadas con la mantención de la información. Estas observaciones podrían estar dadas, por una parte, esta red pudiera estar más sincronizada generando un aumento del ritmo inhibitorio o menor transferencia de información en esta etapa de mantención de la información. Por otra parte, el aumento de la actividad beta en esta etapa, podría reflejar un fenómeno compensatorio de la ineficiente transmisión de información ocurrida en la etapa de codificación, ya que se ha descrito que la actividad oscilatoria beta estaría implicada en funciones cognitivas de tipo integrativa que involucra conexiones a gran escala entre distintas regiones corticales [96], lo mismo podría interpretarse en la etapa de recuperación, en la cual el aumento de la actividad alfa y beta en los pacientes con EM podría reflejar este fenómeno compensatorio.

Al revisar las diferencias entre moderada y baja carga de memoria entre los dos grupos, se pudo encontrar que en ambos grupos se produce una disminución de la actividad alfa en la región parieto-occipital, siendo esta disminución significativamente mayor para el

grupo de pacientes con EM. Estas diferencias observadas entre los dos grupos, podríamos suponer que ocurren debido a las alteraciones en la conectividad entre las regiones cerebrales que participan en la red de memoria de trabajo, como lo reportado por diversos autores [97]–[99], ocasionando un aumento de la inhibición o bloqueo de alfa, impidiendo una adecuada transferencia de la información entre las áreas que participan en esta red de MT.

4. Futuras Direcciones:

Se sugiere complementar esta investigación con análisis de movimientos oculares, en los cuales, las características de dichos movimientos podrían dar una importante visión, más allá de la integridad de los circuitos de control y las vías motoras descendentes, sino que también entregar un valioso aporte, particularmente en el control cognitivo de la conducta [100]. El control cognitivo de los movimientos oculares es un área de investigación creciente, especialmente por la simplicidad y profundidad de la comprensión del sistema motor ocular y también por la facilidad con que pueden ser medidos. Milea y col [101] proponen que el conocimiento de los movimientos oculares podría ser generalizado a conductas más complejas, tales como atención (priorización de estímulos sensoriales), control inhibitorio, memoria de trabajo y procesos de toma de decisiones, siendo éstas las áreas cognitivas más comúnmente alteradas en los pacientes con EM [7]. Como lo reportado por Fielding y col [6], quienes observaron que los pacientes con EM en sacadas guiadas por recuerdo único fueron menos precisos, generaron más respuestas erróneas a estímulos no objetivos y presentaron latencias más prolongadas; mientras que para sacadas guiadas por secuencias de memoria, los pacientes fueron menos precisos y más variables. Demostrando que las mediciones de los movimientos oculares presentan una considerable sensibilidad con respecto a la evaluación cognitiva en pacientes con EM, principalmente en memoria de trabajo y procesos de control

inhibitorio. Sugiriendo que las mediciones de movimientos oculares podrían representar un marcador útil de la severidad y progresión de la enfermedad [6].

También sería importante realizar análisis de fuentes de los hallazgos encontrados en nuestro trabajo, ya que es una técnica útil para localizar los generadores de las mediciones eléctricas obtenidas del cuero cabelludo e investigar las dinámicas temporales de los circuitos neuronales de gran escala, ya que el EEG por si sólo entrega una detallada información temporal acerca de la actividad neuronal en la corteza cerebral, la cual es útil para entender la dinámica de las relaciones entre las distintas regiones cerebrales, sin embargo, la ubicación espacial de las fuentes neuronales de la actividad registrada en el cuero cabelludo no puede ser determinada en forma concluyente [102].

VII. CONCLUSIONES

Dentro de las conclusiones que podemos extraer de los resultados obtenidos en este trabajo, podemos abordar tres temas principales. En el primero de ellos, podemos resumir que los cambios electrofisiológicos, específicamente la modulación de las amplitudes de los potenciales tardíos y las menores amplitudes de estos potenciales alcanzadas por el grupo de pacientes con EM así como la menor modulación de la caída del poder alfa en la etapa de codificación, el aumento de alfa/beta en la mantención y el aumento de alfa en la recuperación, ocurren en forma previa a las alteraciones conductuales.

En el segundo punto, planteamos que estas diferencias electrofisiológicas ocurren en todas las etapas de la tarea de memoria de trabajo. Planteando la posibilidad que las deficiencias de la etapa de codificación, conlleven fenómenos compensatorios en las siguientes etapas (mantención y recuperación), con el objeto de minimizar las alteraciones del procesamiento neuronal de la codificación de los estímulos a memorizar.

En el tercer punto, proyectamos que ambas variables electrofisiológicas serían útiles en detectar alteraciones de la memoria de trabajo en pacientes con esclerosis múltiple, lo cual permitiría realizar el seguimiento de la evolución de estos pacientes así como evaluar la efectividad de las intervenciones específicas a las cuales puedan ser sometidos estos pacientes.

Por otra parte, sostenemos que se requiere aumentar el número de participantes en este estudio para concluir con mayor solidez los resultados obtenidos en esta etapa del estudio y de esta forma, nos ayuden a analizar los mecanismos biológicos subyacentes a estos fenómenos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- [1] N. D. Chiaravalloti and J. DeLuca, "Cognitive impairment in multiple sclerosis," *Lancet*, vol. 7, no. 12, pp. 1139–1151, 2008.
- [2] M. L. B. Ferreira, "Cognitive deficits in multiple sclerosis: a systematic review.," *Arch. neuro-psiquiatria*, vol. 68, no. 4, pp. 632–41, Aug. 2010.
- [3] J. M. Rogers and P. K. Panegyres, "Cognitive impairment in multiple sclerosis: evidence-based analysis and recommendations.," *J. Clin. Neurosci.*, vol. 14, no. 10, pp. 919–27, Oct. 2007.
- [4] R. H. B. Benedict, J. M. Bruce, M. G. Dwyer, N. Abdelrahman, S. Hussein, B. Weinstock-Guttman, N. Garg, F. Munschauer, and R. Zivadinov, "Neocortical atrophy, third ventricular width, and cognitive dysfunction in multiple sclerosis.," *Arch. Neurol.*, vol. 63, no. 9, pp. 1301–6, Sep. 2006.
- [5] A. Winkelmann, C. Engel, A. Apel, and U. K. Zettl, "Cognitive impairment in multiple sclerosis.," *J. Neurol.*, vol. 254 Suppl , no. 2007, pp. II35–42, May 2007.
- [6] J. Fielding, T. Kilpatrick, L. Millist, and O. White, "Multiple sclerosis: Cognition and saccadic eye movements," *J. Neurol. Sci.*, vol. 277, no. 1–2, pp. 32–36, 2009.
- [7] D. Schulz, B. Kopp, A. Kunkel, and J. H. Faiss, "Cognition in the early stage of multiple sclerosis.," *J. Neurol.*, vol. 253, no. 8, pp. 1002–10, Aug. 2006.
- [8] M. Piras, I. Magnano, and E. Canu, "Longitudinal study of cognitive dysfunction in multiple sclerosis: neuropsychological, neuroradiological, and neurophysiological findings," *J. Neurol.*, vol. 74, pp. 878–885, 2003.
- [9] M. P. Amato, E. Portaccio, B. Goretti, V. Zipoli, B. Hakiki, M. Giannini, L. Pastò, and L. Razzolini, "Cognitive impairment in early stages of multiple sclerosis.," *Neurol. Sci.*, vol. 31, no. Suppl 2, pp. S211–4, Nov. 2010.
- [10] S. C. J. Huijbregts, N. F. Kalkers, L. M. J. de Sonneville, V. de Groot, and C. H. Polman, "Cognitive impairment and decline in different MS subtypes.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 245, no. 1–2, pp. 187–94, Jun. 2006.
- [11] J. Sellner, J. Kraus, A. Awad, R. Milo, B. Hemmer, and O. Stüve, "The increasing incidence and prevalence of female multiple sclerosis--a critical analysis of potential environmental factors.," *Autoimmun. Rev.*, vol. 10, no. 8, pp. 495–502, Jun. 2011.
- [12] S. Simioni, C. Ruffieux, L. Bruggimann, J.-M. Annoni, and M. Schluemp, "Cognition, mood and fatigue in patients in the early stage of multiple sclerosis.," *Swiss Med. Wkly.*, vol. 137, no. 35–36, pp. 496–501, Sep. 2007.
- [13] R. S. Prakash, E. M. Snook, J. M. Lewis, R. W. Motl, and a F. Kramer, "Cognitive impairments in relapsing-remitting multiple sclerosis: a meta-analysis.," *Mult. Scler.*, vol. 14, no. 9, pp. 1250–61, Nov. 2008.
- [14] R. H. B. Benedict, D. Cookfair, R. Gavett, M. Gunther, F. Munschauer, N. Garg, and B. Weinstock-Guttman, "Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS).," *J. Int. Neuropsychol. Soc.*, vol. 12, no. 04, pp. 549–558, 2006.
- [15] E. Sartori and G. Edan, "Assessment of cognitive dysfunction in multiple sclerosis.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 245, no. 1–2, pp. 169–75, Jun. 2006.
- [16] P. a. Arnett, S. M. Rao, J. Grafman, L. Bernardin, T. Luchetta, J. R. Binder, and L. Lobeck, "Executive functions in multiple sclerosis: An analysis of temporal ordering, semantic encoding, and planning abilities.," *Neuropsychology*, vol. 11, no. 4, pp. 535–544, 1997.
- [17] P. A. Arnett, S. M. Rao, L. Bernardin, J. Grafman, F. Z. Yetkin, and L. Lobeck, "Relationship between frontal lobe lesions and Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with multiple sclerosis.," *Neurology*, vol. 44, no. 3 Pt 1, pp. 420–425, Mar. 1994.
- [18] J.-P. Ranjeva, B. Audoin, M. Van Au Duong, D. Ibarrola, S. Confort-Gouny, I. Malikova, E. Soulier, P. Viout, A. Ali-Chérif, J. Pelletier, and P. Cozzone, "Local Tissue Damage Assessed with Statistical Mapping Analysis of Brain Magnetization Transfer Ratio: Relationship with Functional Status of Patients in the Earliest Stage of Multiple Sclerosis," *Am. J. Neuroradiol.* , vol. 26 , no. 1 , pp. 119–127, Jan. 2005.
- [19] S. M. Rao, G. J. Leo, and P. St Aubin-Faubert, "On the nature of memory disturbance in multiple sclerosis.," *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, vol. 11, no. 5, pp. 699–712, Oct. 1989.

- [20] U. F. Rao SM, Leo GJ, Ellington L, Nauertz T, Bernardin L, "Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning," *Neurology*, vol. 41, no. 5, pp. 692-6, 1991.
- [21] A. E. Thornton, N. Raz, and K. A. Tucke, "Memory in multiple sclerosis: contextual encoding deficits," *J. Int. Neuropsychol. Soc.*, vol. 8, no. 3, pp. 395-409, Mar. 2002.
- [22] J. DeLuca, E. A. Gaudino, B. J. Diamond, C. Christodoulou, and R. A. Engel, "Acquisition and storage deficits in multiple sclerosis," *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, vol. 20, no. 3, pp. 376-90, Jun. 1998.
- [23] J. DeLuca, S. Barbieri-Berger, and S. K. Johnson, "The nature of memory impairments in multiple sclerosis: acquisition versus retrieval.," *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, vol. 16, no. 2, pp. 183-9, Apr. 1994.
- [24] D. S. Ruchkin, J. Grafman, G. L. Krauss, R. Johnson, H. Canoune, and W. Ritter, "Event-related brain potential evidence for a verbal working memory deficit in multiple sclerosis," *Brain*, vol. 117, no. 2, pp. 289-305, Apr. 1994.
- [25] B. Audoin, M. Van Au Duong, I. Malikova, S. Confort-Gouny, D. Ibarrola, P. J. Cozzone, J. Pelletier, and J.-P. Ranjeva, "Functional magnetic resonance imaging and cognition at the very early stage of MS.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 245, no. 1-2, pp. 87-91, Jun. 2006.
- [26] L. R. Squire, "Memory systems of the brain: A brief history and current perspective," *Neurobiol. Learn. Mem.*, vol. 82, no. 3, pp. 171-177, Nov. 2004.
- [27] L. R. Squire, "Memory and brain systems: 1969-2009.," *J. Neurosci.*, vol. 29, no. 41, pp. 12711-6, Oct. 2009.
- [28] A. Baddeley and G. Hitch, *Recent advances in learning and motivation*, Edit Bower. New York, 1974.
- [29] A. Baddeley, "Working memory: looking back and looking forward.," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 4, no. 10, pp. 829-39, Oct. 2003.
- [30] A. Baddeley, "Working memory.," *Science.*, vol. 255, no. 5044, pp. 556-9, Jan. 1992.
- [31] O. Jensen, "Maintenance of multiple working memory items by temporal segmentation.," *Neuroscience*, vol. 139, no. 1, pp. 237-49, Apr. 2006.
- [32] G. Repovs and A. Baddeley, "The multi-component model of working memory: explorations in experimental cognitive psychology.," *Neuroscience*, vol. 139, no. 1, pp. 5-21, Apr. 2006.
- [33] M. D'Esposito, "From cognitive to neural models of working memory.," *Biol. Sci.*, vol. 362, no. 1481, pp. 761-72, May 2007.
- [34] J. Shucard, A. Tekok-Kilic, and K. Shiels, "Stage and load effects on ERP topography during verbal and spatial working memory," *Brain Res.*, vol. 13, no. 1254, pp. 49-62, 2009.
- [35] E. Halgren, C. Boujon, J. Clarke, C. Wang, and P. Chauvel, "Rapid distributed fronto-parieto-occipital processing stages during working memory in humans," *Cereb. Cortex*, vol. 12, no. 7, pp. 710-28, Jul. 2002.
- [36] C. E. Curtis, "Prefrontal and parietal contributions to spatial working memory.," *Neuroscience*, vol. 139, no. 1, pp. 173-80, Apr. 2006.
- [37] G. D. Honey, E. T. Bullmore, and T. Sharma, "Prolonged reaction time to a verbal working memory task predicts increased power of posterior parietal cortical activation.," *Neuroimage*, vol. 12, no. 5, pp. 495-503, Nov. 2000.
- [38] B. Rypma, J. S. Berger, and M. D'Esposito, "The influence of working-memory demand and subject performance on prefrontal cortical activity.," *J. Cogn. Neurosci.*, vol. 14, no. 5, pp. 721-731, 2002.
- [39] M. K. Johnson, C. L. Raye, K. J. Mitchell, E. J. Greene, and A. W. Anderson, "fMRI evidence for an organization of prefrontal cortex by both type of process and type of information.," *Cereb. Cortex*, vol. 13, no. 3, pp. 265-73, Mar. 2003.
- [40] B. Rypma, J. S. Berger, and M. D'Esposito, "The influence of working-memory demand and subject performance on prefrontal cortical activity.," *J. Cogn. Neurosci.*, vol. 14, no. 5, pp. 721-31, Jul. 2002.
- [41] S. J. Luck, *An introduction to the event-related potential technique*, I, vol. 39, no. 6. MIT press, 2005.
- [42] J. Dien and G. Frishkoff, "Principal Components Analysis of ERP Data," in *Event -Related Potentials. A Methods Handbook*, T. C. Handy, Ed. MIT press, 2005, pp. 189-209.
- [43] P. Luu, D. M. Tucker, and R. Stripling, "Neural mechanisms for learning actions in context.," *Brain Res.*, vol. 1179, pp. 89-105, Nov. 2007.
- [44] P. Gaspar, S. Ruiz, F. Zamorano, M. Altayó, C. Pérez, C. Bosman, and F. Aboitiz, "P300 amplitude is insensitive to working memory load in schizophrenia.," *BMC Psychiatry*, vol. 11, no. 1, p. 29, Jan. 2011.

- [45] S. M. Courtney, "Attention and cognitive control as emergent properties of information representation in working memory.," *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.*, vol. 4, no. 4, pp. 501–16, Dec. 2004.
- [46] E. Awh and E. Vogel, "Interactions between attention and working memory," *Neuroscience*, vol. 139, no. 1, pp. 201–8, Apr. 2006.
- [47] O. Jensen, J. Gelfand, J. Kounios, and J. E. Lisman, "Oscillations in the alpha band (9-12 Hz) increase with memory load during retention in a short-term memory task.," *Cereb. cortex*, vol. 12, no. 8, pp. 877–82, Aug. 2002.
- [48] P. a Gaspar, C. a Bosman, S. Ruiz, F. Zamorano, C. Pérez, and F. Aboitiz, "Parametric increases of working memory load unveil a decreased alpha oscillatory activity in schizophrenia.," *Schizophr. Res.*, vol. 131, no. 1–3, pp. 268–9, Sep. 2011.
- [49] L. Pelosi, J. M. Geesken, M. Holly, M. Hayward, and L. D. Blumhardt, "Working memory impairment in early multiple sclerosis. Evidence from an event-related potential study of patients with clinically isolated myelopathy.," *Brain*, vol. 120, pp. 2039–58, Nov. 1997.
- [50] J. DeLuca, G. J. Chelune, D. S. Tulskey, J. Lengenfelder, and N. D. Chiaravalloti, "Is speed of processing or working memory the primary information processing deficit in multiple sclerosis?," *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, vol. 26, no. 4, pp. 550–62, Jun. 2004.
- [51] J. Lengenfelder, D. Bryant, B. J. Diamond, J. H. Kalmar, N. B. Moore, and J. DeLuca, "Processing speed interacts with working memory efficiency in multiple sclerosis.," *Arch. Clin. Neuropsychol.*, vol. 21, no. 3, pp. 229–38, Apr. 2006.
- [52] S. Sternberg, "High-Speed Scanning in Human Memory," *Science (80-.)*, vol. 153, no. 3736, pp. 652–654, Aug. 1966.
- [53] S. Sternberg, "Memory-scanning: mental processes revealed by reaction-time experiments.," *Am. Sci.*, vol. 57, no. 4, pp. 421–57, Jan. 1969.
- [54] T. Ellger, F. Bethke, A. Frese, R. J. Luettmann, A. Buchheister, E. B. Ringelstein, and S. Evers, "Event-related potentials in different subtypes of multiple sclerosis--a cross-sectional study.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 205, no. 1, pp. 35–40, Dec. 2002.
- [55] L. Leocani, S. Medaglini, and G. Comi, "Evoked potentials in monitoring multiple sclerosis.," *Neurol. Sci.*, vol. 21, no. 4 Suppl 2, pp. S889–91, Jan. 2000.
- [56] D. T. Grima, G. W. Torrance, G. Francis, G. Rice, A. J. Rosner, and L. Lafortune, "Cost and health related quality of life consequences of multiple sclerosis.," *Mult. Sclerosis.*, vol. 6, no. 2, pp. 91–8, Apr. 2000.
- [57] R. Cutajar, E. Ferriani, C. Scandellari, L. Sabbatini, C. Trocino, L. P. Marchello, and S. Stecchi, "Cognitive function and quality of life in multiple sclerosis patients.," *J. Neurovirol.*, vol. 6 Suppl 2, pp. S186–90, May 2000.
- [58] E. A. Gaudino, N. D. Chiaravalloti, J. DeLuca, and B. J. Diamond, "A comparison of memory performance in relapsing-remitting, primary progressive and secondary progressive, multiple sclerosis.," *Neuropsychiatry. Neuropsychol. Behav. Neurol.*, vol. 14, no. 1, pp. 32–44, Jan. 2001.
- [59] A. Achiron and Y. Barak, "Cognitive changes in early MS: a call for a common framework.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 245, no. 1–2, pp. 47–51, Jun. 2006.
- [60] J. Grigsby, S. D. Ayarbe, N. Kravcisin, and D. Busenbark, "Working memory impairment among persons with chronic progressive multiple sclerosis.," *J. Neurol.*, vol. 241, no. 3, pp. 125–31, Jan. 1994.
- [61] E. Maris and R. Oostenveld, "Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data," *J. Neurosci. Methods*, vol. 164, no. 1, pp. 177–190, Aug. 2007.
- [62] T. Olivares, a Nieto, M. Sánchez, T. Wollmann, M. Hernández, and J. Barroso, "Pattern of neuropsychological impairment in the early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis," *Mult. Scler.*, vol. 11, no. 2, pp. 191–197, 2005.
- [63] C. Sfagos, C. C. Papageorgiou, K. K. Kosma, E. Kodopadelis, N. K. Uzunoglu, D. Vassilopoulos, and a D. Rabavilas, "Working memory deficits in multiple sclerosis: a controlled study with auditory P600 correlates.," *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 74, no. 9, pp. 1231–1235, 2003.
- [64] M. V. Au Duong, K. Boulanouar, B. Audoin, S. Treseras, D. Ibarrola, I. Malikova, S. Confort-Gouny, P. Celsis, J. Pelletier, P. J. Cozzone, and J. P. Ranjeva, "Modulation of effective connectivity inside the working memory network in patients at the earliest stage of multiple sclerosis," *Neuroimage*, vol. 24, no. 2, pp. 533–538, 2005.

- [65] M. C. Bonnet, M. Allard, B. Dilharreguy, M. Deloire, K. G. Petry, and B. Brochet, "Cognitive compensation failure in multiple sclerosis," *Neurology*, vol. 75, no. 14, pp. 1241–1248, 2010.
- [66] M. S. a Deloire, a Ruet, D. Hamel, M. Bonnet, V. Dousset, and B. Brochet, "MRI predictors of cognitive outcome in early multiple sclerosis.," *Neurology*, vol. 76, no. 13, pp. 1161–7, Mar. 2011.
- [67] T. J. Covey, R. Zivadinov, J. L. Shucard, and D. W. Shucard, "Information processing speed, neural efficiency, and working memory performance in multiple sclerosis: Differential relationships with structural magnetic resonance imaging," *J. Clin. Exp. Neuropsychol.*, vol. 33, no. 10, pp. 1129–1145, 2011.
- [68] M. Amann, L. S. Dössegger, I.-K. Penner, J. G. Hirsch, C. Raselli, P. Calabrese, K. Weier, E.-W. Radü, L. Kappos, and A. Gass, "Altered functional adaptation to attention and working memory tasks with increasing complexity in relapsing-remitting multiple sclerosis patients.," *Hum. Brain Mapp.*, vol. 32, no. 10, pp. 1704–1719, 2011.
- [69] J. C. Aminoff and D. S. Goodin, "Long-latency cerebral event-related potentials in multiple sclerosis.," *J. Clin. Neurophysiol.*, vol. 18, no. 4, pp. 372–377, 2001.
- [70] R. Gil, L. Zai, J. P. Neau, T. Jonveaux, C. Agbo, T. Rosolacci, P. Burbaud, and P. Ingrand, "Event-related auditory evoked potentials and multiple sclerosis," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 88, no. 3, pp. 182–187, May 1993.
- [71] J. Polich, J. S. Romine, J. C. Sipe, M. Aung, and D. J. Dalessio, "P300 in multiple sclerosis: A preliminary report," *Int. J. Psychophysiol.*, vol. 12, no. 2, pp. 155–163, 1992.
- [72] M. Sailer, N. A. Losseff, L. Wang, M. L. Gawne-Cain, A. J. Thompson, and D. H. Miller, "T1 lesion load and cerebral atrophy as a marker for clinical progression in patients with multiple sclerosis. A prospective 18 months follow-up study," *Eur. J. Neurol.*, vol. 8, no. 1, pp. 37–42, 2001.
- [73] W. Gerschlager, R. Beisteiner, L. Deecke, G. Dirnberger, W. Endl, H. Kollegger, G. Lindinger, K. Vass, and W. Lang, "Electrophysiological, neuropsychological and clinical findings in multiple sclerosis patients receiving interferon beta-1b: a 1-year follow-up," *Eur Neurol*, vol. 44, no. 4, pp. 205–9, 2000.
- [74] G. F. Potts, "An ERP index of task relevance evaluation of visual stimuli.," *Brain Cogn.*, vol. 56, no. 1, pp. 5–13, Oct. 2004.
- [75] G. F. Potts and D. M. Tucker, "Frontal evaluation and posterior representation in target detection," *Cogn. Brain Res.*, vol. 11, no. 1, pp. 147–156, Mar. 2001.
- [76] C. D. Lefebvre, Y. Marchand, G. a Eskes, and J. F. Connolly, "Assessment of working memory abilities using an event-related brain potential (ERP)-compatible digit span backward task," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 116, no. 7, pp. 1665–80, Jul. 2005.
- [77] S. Finnigan, R. G. O'Connell, T. D. R. Cummins, M. Broughton, and I. H. Robertson, "ERP measures indicate both attention and working memory encoding decrements in aging," *Psychophysiology*, vol. 48, no. 5, pp. 601–611, 2011.
- [78] I. Koychev, W. El-Deredy, C. Haenschel, and J. F. W. Deakin, "Visual information processing deficits as biomarkers of vulnerability to schizophrenia: an event-related potential study in schizotypy.," *Neuropsychologia*, vol. 48, no. 7, pp. 2205–14, Jun. 2010.
- [79] R. Whelan, R. Lonergan, H. Kiiski, H. Nolan, K. Kinsella, J. Bramham, M. O'Brien, R. B. Reilly, M. Hutchinson, and N. Tubridy, "A high-density ERP study reveals latency, amplitude, and topographical differences in multiple sclerosis patients versus controls.," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 121, no. 9, pp. 1420–6, Sep. 2010.
- [80] J. J. Gonzalez-Rosa, M. Vazquez-Marrufo, E. Vaquero, P. Duque, M. Borges, C. M. Gomez-Gonzalez, and G. Izquierdo, "Cluster analysis of behavioural and event-related potentials during a contingent negative variation paradigm in remitting-relapsing and benign forms of multiple sclerosis.," *BMC Neurol.*, vol. 11, no. 1, p. 64, Jan. 2011.
- [81] H. Kiiski, R. B. Reilly, R. Lonergan, S. Kelly, M. C. O'Brien, K. Kinsella, J. Bramham, T. Burke, S. Ó Donnchadha, H. Nolan, M. Hutchinson, N. Tubridy, and R. Whelan, "Only Low Frequency Event-Related EEG Activity Is Compromised in Multiple Sclerosis: Insights from an Independent Component Clustering Analysis," *PLoS One*, vol. 7, no. 9, 2012.
- [82] H. Kiiski, R. B. Reilly, R. Lonergan, S. Kelly, M. O'Brien, K. Kinsella, J. Bramham, T. Burke, S. O'Donnchadha, H. Nolan, M. Hutchinson, N. Tubridy, and R. Whelan, "Change in PASAT performance correlates with change in P3 ERP amplitude over a 12-month period in multiple sclerosis patients.," *J. Neurol. Sci.*, vol. 305, no. 1–2, pp. 45–52, Jun. 2011.

- [83] D. E. J. Linden, "The P300: Where in the Brain Is It Produced and What Does It Tell Us?," *Neurosci.*, vol. 11, no. 6, pp. 563–576, Dec. 2005.
- [84] J. Polich, "Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b.," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 118, no. 10, pp. 2128–48, Oct. 2007.
- [85] a Kok, "On the utility of P3 amplitude as a measure of processing capacity.," *Psychophysiology*, vol. 38, no. 3, pp. 557–577, 2001.
- [86] F. Guillem, A. Rougier, and B. Claverie, "Short- and long-delay intracranial ERP repetition effects dissociate memory systems in the human brain.," *J. Cogn. Neurosci.*, vol. 11, no. 4, pp. 437–458, 1999.
- [87] L. García-Larrea and G. Cézanne-Bert, "P3, positive slow wave and working memory load: a study on the functional correlates of slow wave activity.," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 108, no. 3, pp. 260–273, 1998.
- [88] B. Audoin, M. Guye, F. Reuter, M.-V. Au Duong, S. Confort-Gouny, I. Malikova, E. Soulier, P. Viout, A. A. Chérif, P. J. Cozzone, J. Pelletier, and J.-P. Ranjeva, "Structure of WM bundles constituting the working memory system in early multiple sclerosis: a quantitative DTI tractography study.," *Neuroimage*, vol. 36, no. 4, pp. 1324–30, Jul. 2007.
- [89] L. Bonzano, M. Pardini, G. L. Mancardi, M. Pizzorno, and L. Roccatagliata, "Structural connectivity influences brain activation during PVSAT in Multiple Sclerosis.," *Neuroimage*, vol. 44, no. 1, pp. 9–15, Jan. 2009.
- [90] R. Dineen, J. Vilisaar, J. Hlinka, C. M. Bradshaw, P. S. Morgan, C. S. Constantinescu, and D. P. Auer, "Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis.," *Brain*, vol. 132, no. Pt 1, pp. 239–49, Jan. 2009.
- [91] N. Shu, Y. Liu, K. Li, Y. Duan, J. Wang, C. Yu, H. Dong, J. Ye, and Y. He, "Diffusion tensor tractography reveals disrupted topological efficiency in white matter structural networks in multiple sclerosis.," *Cereb. Cortex*, vol. 21, no. 11, pp. 2565–77, Nov. 2011.
- [92] Y. He, A. Dagher, Z. Chen, A. Charil, A. Zijdenbos, K. Worsley, and A. Evans, "Impaired small-world efficiency in structural cortical networks in multiple sclerosis associated with white matter lesion load.," *Brain*, vol. 132, no. Pt 12, pp. 3366–79, Dec. 2009.
- [93] M.-V. Au Duong, B. Audoin, K. Boulanouar, D. Ibarrola, I. Malikova, S. Confort-Gouny, P. Celsis, J. Pelletier, P. J. Cozzone, and J.-P. Ranjeva, "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.*, vol. 25, no. 10, pp. 1245–1253, 2005.
- [94] O. Jensen and A. Mazaheri, "Shaping Functional Architecture by Oscillatory Alpha Activity: Gating by Inhibition," *Front. Hum. Neurosci.*, vol. 4, p. 186, Nov. 2010.
- [95] O. Jensen, B. Gips, T. O. Bergmann, and M. Bonnefond, "Temporal coding organized by coupled alpha and gamma oscillations prioritize visual processing," *Trends Neurosci.*, vol. 37, no. 7, pp. 357–369, 2014.
- [96] T. H. Donner and M. Siegel, "A framework for local cortical oscillation patterns," *Trends Cogn. Sci.*, vol. 15, no. 5, pp. 191–199, 2011.
- [97] I. K. Penner, M. Rausch, L. Kappos, K. Opwis, and E. W. Radü, "Analysis of impairment related functional architecture in MS patients during performance of different attention tasks," *J. Neurol.*, vol. 250, no. 4, pp. 461–472, 2003.
- [98] M. a Rocca, P. Valsasina, V. Martinelli, P. Misci, A. Falini, G. Comi, and M. Filippi, "Large-scale neuronal network dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis.," *Neurology*, vol. 79, no. 14, pp. 1449–57, Oct. 2012.
- [99] O. L. Gamboa, E. Tagliazucchi, F. Von Wegner, a. Jurcoane, M. Wahl, H. Laufs, and U. Ziemann, "Working memory performance of early MS patients correlates inversely with modularity increases in resting state functional connectivity networks," *Neuroimage*, vol. 94, pp. 385–395, 2014.
- [100] R. J. Leigh and C. Kennard, "Using saccades as a research tool in the clinical neurosciences," *Brain*, vol. 127, no. 3, pp. 460–477, 2004.
- [101] D. Milea, E. Lobel, S. Lehericy, C. Pierrot-Deseilligny, and A. Berthoz, "Cortical mechanisms of saccade generation from execution to decision," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1039, pp. 232–238, 2005.
- [102] Lei X, Wu and Valdes-Sosa PA, "Incorporating priors for EEG source imaging and connectivity analysis", *Front. Neurosci.*, vol. 9, no. 284, pp. 1-12, 2015

ANEXO N° I

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El objetivo de la entrega de la siguiente información, es ayudarle a tomar la decisión de participar o no en el presente proyecto. Este “Consentimiento Informado” será leído en conjunto con el/la participante, en el marco de una entrevista realizada por al menos uno de los investigadores responsables del proyecto, con el fin de aclarar cualquier duda y permitir tomar una decisión informada respecto a las implicancias de participar o no en la investigación propuesta. A los/las participantes se les brindará la opción de llevarse consigo el “Consentimiento Informado”, a fin de consultar, con su familia u otras personas que considere conveniente, la decisión respecto a su participación en el proyecto.

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

“Estudio electrofisiológico de la función cognitiva a través de la memoria de trabajo en pacientes con esclerosis múltiple”

INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL ESTUDIO:

Dr. Francisco Aboitiz Domínguez.
Klga. Alejandra Figueroa Vargas.
Laboratorio de Neurociencia Cognitiva
Departamento de Psiquiatría y Centro de Investigaciones Médicas
Departamento de Neurología
Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile
Av. Marcoleta 391, 2° piso, Santiago
Tel. 02- 354 6871.
Programa de Magíster en Ciencias Biológicas y Médicas, mención Neurociencias
Escuela de Postgrado.
Facultad de Medicina, Universidad de Chile.
Av. Independencia #1027, Santiago.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO:

El objetivo de la presente investigación es evaluar las habilidades cognitivas de pacientes con esclerosis múltiple.

Se ha visto que pacientes con esta enfermedad presentan problemas de memoria, específicamente en la memoria de corto plazo. Estas dificultades se han agrupado dentro de lo que se denomina síntomas cognitivos, los cuales son de gran relevancia, pues afectan en forma importante la calidad de vida de los individuos y de sus familias. Sin embargo, aún se desconocen cuáles son las habilidades cognitivas específicas que están afectadas, y qué podría dar cuenta de estos síntomas, así como cuáles son los mecanismos biológicos que subyacen a estos problemas de memoria de corto plazo. La presente investigación medirá estas habilidades a través de la “Prueba de exploración modificada de Sternberg”, donde paralelamente se evaluará la actividad cerebral de cada participante por medio de registros electroencefalográficos.

DETALLE DEL PROCEDIMIENTO:

En esta investigación participarán tanto individuos sanos como individuos con esclerosis múltiple, y consta de un total de dos sesiones, las que se describen a continuación:

1. Entrevista Informativa con el participante: Se explica el procedimiento y se entrega el “Consentimiento Informado” (Duración aproximada de 15-20 minutos.).
2. Prueba de exploración modificada de Sternberg: La tarea consiste en mostrar visualmente al sujeto, una lista de consonantes (2, 4 o 6 letras) de forma simultánea en un monitor de computador. Cada grupo de consonantes, estará seguido de una pantalla negra con un signo de fijación (“+”) en el centro del monitor, luego este signo será reemplazado por un estímulo objetivo, el cual corresponde a una consonante que puede o no estar presente en el grupo de consonantes presentados previamente. Finalmente, a través de un dispositivo de respuesta, los sujetos deberán indicar si el estímulo objetivo está presente o ausente dentro del grupo de consonantes exhibido anteriormente (presionando lo más rápido posible el botón 1 o 2 respectivamente), utilizando en la primera etapa la mano derecha y en la segunda etapa de la prueba la mano izquierda. Las reglas de esta prueba serán explicadas antes de comenzar la tarea.

Durante esta sesión a los participantes se les instalará una gorra que posee electrodos a través de los cuales se medirá la actividad eléctrica cerebral. Esta es una técnica indolora, no

invasiva, conocida y validada por la literatura científica existente, y no implica ningún riesgo conocido para el evaluado (Duración aproximada total de procedimiento 90-120 minutos).

BENEFICIOS DEL ESTUDIO:

Como participante de la presente investigación, usted contribuirá al desarrollo de la ciencia médica, en específico a lo que se refiere al conocimiento sobre aquellos síntomas cognitivos presentes en la esclerosis múltiple y mejorar eventualmente su enfrentamiento clínico. Los beneficios serán más bien a largo plazo y en un sentido global más que personal, lo cual no implica, por tanto, un tratamiento. Tenga además a bien saber que, cada participante recibirá un informe sobre los resultados de cada una de las evaluaciones realizadas, pudiendo disponer de ellas con toda libertad.

RIESGOS:

Todos los procedimientos de esta investigación han sido avalados por la literatura científica, y no significan ningún riesgo para quien participa.

COSTOS Y COMPENSACIONES:

Todos los exámenes y procedimientos serán sin costos para el participante.

CONFIDENCIALIDAD:

Si bien los resultados que se obtengan pretenden servir para publicaciones de carácter científico, su identidad no aparecerá en ningún caso publicada, permaneciendo en secreto y solo codificada con sus iniciales y la fecha del procedimiento; cualquier persona ajena a esta investigación carece de acceso a información que permita identificar a los voluntarios que participen en este estudio.

La integridad de los datos obtenidos serán almacenados en formato digital, por duplicado, en soportes diferentes (disco duro y DVD a modo de respaldo) mientras dure el estudio. Una vez finalizado éste, los datos serán guardados solo en medio sólido (DVD) con el fin de contar con un respaldo para la eventual comprobación de resultados y procedimientos de análisis. En ambos casos los datos se mantendrán al resguardo del investigador responsable. Es posible que los datos recopilados en el marco de esta investigación sean utilizados en estudios ulteriores que se beneficien del tipo de registros obtenidos. Si así fuera, solamente estarán

disponibles los datos codificados según lo indicado en el párrafo anterior, manteniendo su identidad personal estrictamente secreta.

PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO:

La decisión de participar en el presente estudio es completamente personal y el otorgamiento del consentimiento por parte de los participantes no tiene ningún tipo de repercusión de orden económico, legal, ni obligatorio a futuro. Asimismo, los participantes pueden abandonar el estudio en cualquier fase de éste, si esta fuera su voluntad. La no participación en el estudio no tendrá ninguna consecuencia en el manejo médico futuro o en la relación con los médicos tratantes.

COMUNICACIÓN CON EL INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Si tiene dudas o preguntas sobre la presente investigación, puede contactarse a algunos de los Investigadores responsables:

Dr. Francisco Aboitiz Domínguez.

Klga. Alejandra Figueroa Vargas.

Laboratorio de Neurociencia Cognitiva

Departamento de Psiquiatría y Centro de Investigaciones Médicas

Departamento de Neurología

Facultad de Medicina

Pontificia Universidad Católica de Chile. Av. Marcoleta 391, 2º piso, Santiago

Tel. 02- 354 6871

Programa de Magíster en Ciencias Biológicas y Médicas, mención Neurociencias

Escuela de Postgrado.

Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Av. Independencia #1027, Santiago.

Tel. 02-9786031

DECLARACION DEL PARTICIPANTE

▪ El presente estudio se me ha explicado claramente por _____ (nombre de la persona informante), en forma verbal y escrita. Se que voy a participar en tres sesiones que incluyen entrevistas y pruebas a través del computador. Se que se me hará un registro a través de una gorra con electrodos, me grabarán con una cámara de video digital. Se también que las sesiones tienen duraciones variables, siendo la más extensa de aproximadamente 120 minutos . Por lo tanto, consiento voluntariamente que yo, _____ voy a participar en la presente investigación. He tenido la oportunidad para aclarar todas mis dudas, y si surgen dudas adicionales, el investigador ha expresado estar disponible para atenderme. Si me llegara a sentir incómodo y deseara abandonar el estudio, soy libre de hacerlo en cualquier momento y sin ningún tipo de consecuencias.

Nombre del participante: _____

Firma _____ del _____ participante:

RUT _____ de _____ participante:

Firma Investigador informante: _____

Firma Investigador Responsable: _____

Alejandra Figueroa Vargas

Fecha y hora: _____

