



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN BIOQUIMICA

MODELADO DE LA CONDUCTA PUPILAR PARA EL DIAGNOSTICO TEMPRANO DE LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

MARCELA SCHUMACHER

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2021

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Bioquímica, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia durante el período comprendido entre el año 2015 y el 2021, bajo la dirección del Doctor Luis Politi y la Doctora Liliana Castro



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el /....., mereciendo la calificación de

A Emilia, Antonia y Gerardo.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a todos los que me tendieron una mano, tanto en el ámbito académico como en el ámbito personal. A todos aquellos que me impulsaron, me acompañaron y me aconsejaron de manera incondicional.

Fue muy importante para mí el apoyo y acompañamiento de mis Directores, el Dr. Luis Politi y la Dra. Liliana Castro, quienes escucharon mi propuesta, mis dudas y me acompañaron con dedicación y profesionalismo.

Gracias al Dr. Osvaldo Agamennoni por acompañarme y guiarme durante todos éstos años. Gracias al Dr. Mario Parra, por aceptarme en su laboratorio y brindarme tanto conocimiento y apoyo profesional.

Gracias infinitas a Gerardo, por estar caminando al lado mío y por las largas jornadas de trabajo hablando de Alzheimer y eye tracking, a mis hijas Emilia y Antonia que han compartido juegos a mi lado mientras escribía ésta tesis y han participado con amor de cada uno de mis proyectos.

Gracias a mis padres, que han formado mis raíces de la mejor manera, dándome todo y acompañando cada uno de mis pasos.

Sin duda, cada una de las personas a las que agradezco, han sido el motor de mi impulso y de mis proyectos.

CONTENIDO

PREFACIO

RESUMEN

ABSTRACT

ACRÓNIMOS USADO

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sistema visual y percepción visual

1.2 Características de la pupila

1.3 Pupilometría

1.3.1 Conducta pupilar y vinculación con el núcleo Locus Coeruleus

1.3.2 Pupilometría y emociones

1.3.3 Pupilometría, memoria y estadios de la memoria

1.4 Memoria de corto plazo: memoria integrativa y memoria asociativa

1.5 Relación entre cambios pupilares y memoria

1.6 Enfermedad de Alzheimer

1.6.1 Fases de la enfermedad de Alzheimer

1.7 Memoria visual, pupila y enfermedad de Alzheimer

1.8 Envejecimiento sano, envejecimiento patológico y Memoria Visual

Integrativa de Corto Plazo.

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3. MÉTODOS

3.1 Participantes

3.2 Estímulo Visual

3.3 Análisis Estadístico

4. RESULTADOS

4.1 Promedio de predictores y conducta pupilar

4.2 Interacción de Condición (Controles y EA) vs Tarea de Memoria (TMVICP y TMVACP)

4.3 Interacción de Condición (Controles y EA) vs Tarea de Memoria (TMVICP y TMVACP) vs Estadio de Memoria (Codificación y Reconocimiento)

4.4 Uso de la conducta pupilar para predecir Enfermedad de Alzheimer.

Regresión logística

5. DISCUSION

5.1 Pupila, Locus Coeruleus y Enfermedad de Alzheimer

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

REFERENCIAS

RESUMEN

Antecedentes: En los últimos años se ha utilizado la conducta pupilar para medir el desempeño cognitivo de las personas, donde un mayor esfuerzo cognitivo produce un incremento en el diámetro pupilar. Diversos estudios han mostrado que la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo (memoria que permite almacenar la imagen completa y unívoca de un objeto) se encuentra alterada en personas con Enfermedad de Alzheimer (EA). A su vez, se ha vinculado al funcionamiento de la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo con una alta demanda de recursos cognitivos. Trabajos previos usando diversos estímulos visuales, mostraron que personas con Enfermedad de Alzheimer no presentan cambios significativos en sus pupilas a medida que aumenta la exigencia cognitiva.

Objetivos: Establecer si el análisis del tamaño pupilar puede constituirse como un biomarcador cognitivo no invasivo para contribuir al diagnóstico temprano de la Enfermedad de Alzheimer.

Métodos: Para analizar la conducta pupilar se utilizó la técnica de seguimiento ocular (eyetracking) en una muestra de 30 personas sanas (Controles) y 18 pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Alzheimer leve mientras se evaluó el desempeño de la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo.

Resultados: La media de dilatación pupilar en los Controles se amplió significativamente a medida que la actividad demandó mayor esfuerzo cognitivo. Por el contrario, pacientes con EA no mostraron mayor dilatación pupilar significativa frente al incremento de la demanda cognitiva. Además, el análisis de regresión logística mostró que el análisis pupilar permite separar personas sanas (Controles), de Enfermos con Alzheimer con una sensibilidad de 94% y una especificidad del 100%.

Conclusiones: Los pacientes con Enfermedad de Alzheimer leve presentaron alteraciones cognitivas que impidieron modificar significativamente el diámetro de sus pupilas a medida que se incrementaba la demanda cognitiva. A su vez, la regresión logística mostró que las respuestas pupilares pueden considerarse una herramienta muy eficaz para clasificar desempeño a nivel individual, clasificando a todos los pacientes con Enfermedad de Alzheimer como tales (100 % especificidad).

Los análisis, resultados e interpretaciones reportados aquí, son pioneros en la investigación de alteraciones en mecanismos moleculares y cognitivos en la Enfermedad de Alzheimer. Finalmente, proponemos el análisis de la conducta pupilar durante la ejecución de tareas que involucren a la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo como un biomarcador para detectar demencia tipo Alzheimer en estadíos tempranos de la patología.

ABSTRACT

Background: In recent years, pupillary behavior has been used to measure the cognitive performance of people, where greater cognitive effort produces an increase in pupillary diameter. Several studies have shown that Integrative Visual Short-Term Memory (memory that allows storing the complete and univocal image of an object) is altered in people with Alzheimer's Disease (AD). In turn, the functioning of the Integrative Visual Short-Term Memory has been linked to a high demand of cognitive resources. Previous work using different visual stimuli showed that people with Alzheimer's disease do not show changes in their pupils as cognitive demand increases.

Objectives: To establish whether pupil size analysis can be used as a non-invasive cognitive biomarker to contribute to the early diagnosis of Alzheimer's disease.

Methods: To analyze pupillary behavior, the eyetracking technique was used in a sample of 30 healthy people (Controls) and 18 patients with a diagnosis of mild Alzheimer's disease while the performance of the Integrative Visual Short-Term Memory was evaluated.

Results: Mean pupillary dilation in Controls widened significantly as the activity demanded greater cognitive effort. In contrast, AD patients did not show greater pupillary dilation as cognitive demand increased. In addition, logistic regression analysis showed that pupillary analysis allows separating healthy people (Controls), from Alzheimer's Disease with a sensitivity of 94% and a specificity of 100%.

Conclusions: Patients with mild Alzheimer's Disease presented cognitive alterations that prevented significant modification of their pupil diameter as cognitive demand increased. In turn, logistic regression showed that pupillary responses can be considered

a very effective tool to classify performance at the individual level, classifying all patients with Alzheimer's disease as such (100% specificity).

The analyses, results and interpretations reported here are pioneering in the investigation of alterations in molecular and cognitive mechanisms in Alzheimer's disease. Finally, we propose the analysis of pupillary behavior during the execution of tasks involving Integrative Visual Short-Term Memory as a biomarker to detect Alzheimer's type dementia in early stages of the pathology.

ACRÓNIMOS USADOS

| Tabla de Acrónimos | |
|--------------------|---|
| EA | Enfermedad Alzheimer |
| BA | Beta amiloide |
| LC | Locus Coeruleus |
| NA | Noradrenalina |
| LC-NA | Sistema LC- NA |
| MVICP | Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo |
| MVACP | Memoria Visual Asociativa de Corto Plazo |
| MT | Memoria de Trabajo |
| TMVICP | Tarea Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo |
| TMVACP | Tarea Memoria Visual Asociativa de Corto Plazo |
| DCL | Deterioro Cognitivo Leve |
| EEG | Electro encefalograma |
| LTM | Lóbulo Temporal Medio |
| CP | Córtex Prefrontal |
| DFT | Demencia Fronto Temporal |
| EP | Enfermedad de Parkinson |
| SNC | Sistema Nervioso Central |
| SNA | Sistema Nervioso Autónomo |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de la esperanza de vida incrementa directamente el número de patologías relacionadas con la edad avanzada. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el incremento progresivo de la población adulta en el mundo es directamente proporcional al aumento de casos de deterioro cognitivo y de enfermedades asociadas a demencias. Datos actuales de la OMS (<https://www.who.int/health-topics/dementia>) muestran que en el mundo hay 50 millones de personas que sufren demencias, y del total de esos casos la enfermedad de Alzheimer (EA) sigue siendo la que más casos reporta (alrededor de un 60 o 70 % de los casos de demencia).

La EA se caracteriza por la aparición de placas seniles y ovillos neurofibrilares derivados de la agregación anormal de proteínas. La acumulación progresiva de estas estructuras fisiopatológicas en diferentes partes del cerebro genera deterioro a nivel cognitivo, conductual y funcional que afectan todos los ámbitos de la vida del paciente, y lo convierten en dependiente del cuidado de los demás. Algunos pacientes con EA son conscientes de la pérdida de sus facultades, aunque muy frecuentemente en su fase inicial el trastorno pasa desapercibido. Según la Organización Alzheimer Disease Internacional (ADI) a pesar del mayor impacto de la demencia en el mundo, son pocas las personas que reciben un diagnóstico temprano de la enfermedad. Aun cuando no existe cura, un diagnóstico temprano permitiría comenzar un tratamiento que logre enlentecer el progreso de la enfermedad.

En esta Tesis proponemos la utilización de una técnica novedosa y robusta para identificar a pacientes con enfermedad de Alzheimer leve. Esta técnica comprende el registro de la conducta pupilar por medio de un equipo de seguimiento ocular (eye

tracker) durante el testeo de la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo (memoria que almacena la imagen unívoca de un objeto). Diversos estudios han mostrado que esta memoria se encuentra alterada en personas con Enfermedad de Alzheimer posicionando a la misma como una memoria sensible a la Enfermedad de Alzheimer en estadios leves de la enfermedad (Parra y col., 2015; Fernández y col., 2018). Por otro lado, hay amplia evidencia de que la pupila puede indicar si hay alteraciones a nivel cognitivo, puesto que se sabe que la actividad cognitiva impacta en el tamaño de la pupila y un mayor uso de recursos cognitivos produce un incremento en el diámetro pupilar (Unsworth y Robison, 2015; Van der Wel y Van Steenbergen, 2018; Alnaes y col. 2014). Estudios recientes sugieren que la neurodegeneración a nivel subcortical (Norton y col., 2020, para una revisión) ocurre en estadios tempranos de la Enfermedad de Alzheimer, y que estos serían evidenciables en la conducta pupilar durante actividades que requieran la utilización de recursos cognitivos (Granholm y col., 2017). En esta Tesis mostramos que sólo en las personas sanas se observa una fuerte correlación entre la conducta pupilar y el desempeño eficiente de la memoria capaz de vincular múltiples elementos para armar la representación unificada de algo, que se denomina Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo (MVICP). Por el contrario, los pacientes con Enfermedad de Alzheimer leve no muestran significativos cambios en sus pupilas sugiriendo alteraciones en la MVICP. En este sentido, resulta de gran relevancia la medición de la conducta pupilar durante la ejecución de tareas que vinculen a la MVICP para discriminar personas sanas de personas con Alzheimer.

En la actualidad, el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer sigue siendo en su mayor parte clínico, es decir, basado en la presencia de alteraciones cognitivas. Solo un pequeño número de diagnósticos se realizan mediante el uso de biomarcadores

(indicadores biológicos que pueden medir y cuantificar el desarrollo de una enfermedad). Los biomarcadores permiten identificar la Enfermedad de Alzheimer en su fase preclínica. Esto significa que los daños cerebrales comienzan décadas antes de que se manifiesten los primeros síntomas cognitivos.

Los biomarcadores de carácter fisiopatológico para la Enfermedad de Alzheimer son:

- Los niveles de proteínas Beta Amiloide y TAU en el líquido cefalorraquídeo, que se analizan a partir del líquido extraído mediante una punción lumbar (Berten y col., 2017).
- La detección de la acumulación de esas proteínas en el cerebro mediante tomografía por emisión de positrones (PET) (Norton y col., 2020).

Dado que estos biomarcadores tienen carácter invasivo y muy costoso, es importante encontrar nuevas herramientas de detección temprana de la enfermedad. Por lo explicado, el análisis de la conducta pupilar puede constituirse como un biomarcador para ayudar al profesional médico a mejorar el diagnóstico temprano de la Enfermedad de Alzheimer, siendo un método sencillo, no invasivo y no tan costoso como los estudios anteriormente descritos.

1.1 Sistema visual y percepción visual

El estudio sobre la visión humana suele dividirse en tres grandes áreas; éstas son:

- a) la visión de bajo nivel, que está relacionada con la extracción de las propiedades físicas de la imagen como, por ejemplo, la profundidad, el color y la textura (Leigh y Zee, 2006),
- b) la visión de nivel intermedio, que combina las relaciones que construye el cerebro con la forma de un objeto en el espacio (Yarbus, 1967),
- c) la visión de alto nivel, relacionada con las características de las representaciones visuales junto con la adquisición de información desde la memoria de trabajo, para poder lograr la identificación de los objetos (Rayner, 1998, para una revisión).

En esta Tesis analizamos cómo se lleva a cabo la visión de alto nivel, en particular la modulación de la conducta pupilar, en personas sanas y en personas con Enfermedad de Alzheimer.

Entendemos por percepción visual aquella actividad que nos permite interpretar la información lumínica que alcanza al ojo. Los objetos que nos rodean reflejan luz con diferentes grados de intensidad (luminosidad) y eso hace que la base de la visión sea la comparación de contrastes. Los rayos de luz atraviesan los componentes ópticos antes de alcanzar la retina (Figura 1). La retina cubre el polo posterior del ojo y se apoya sobre una capa de células (epitelio pigmentario) que contienen melanina. La función principal del epitelio pigmentario es la de absorber la luz incidente que no ha sido captada por la retina evitando, de esta forma, que la luz se refleje y ocasione una distorsión de la

imagen. La información que se recibe a través de los ojos llega al cerebro y es ahí donde se procesa.

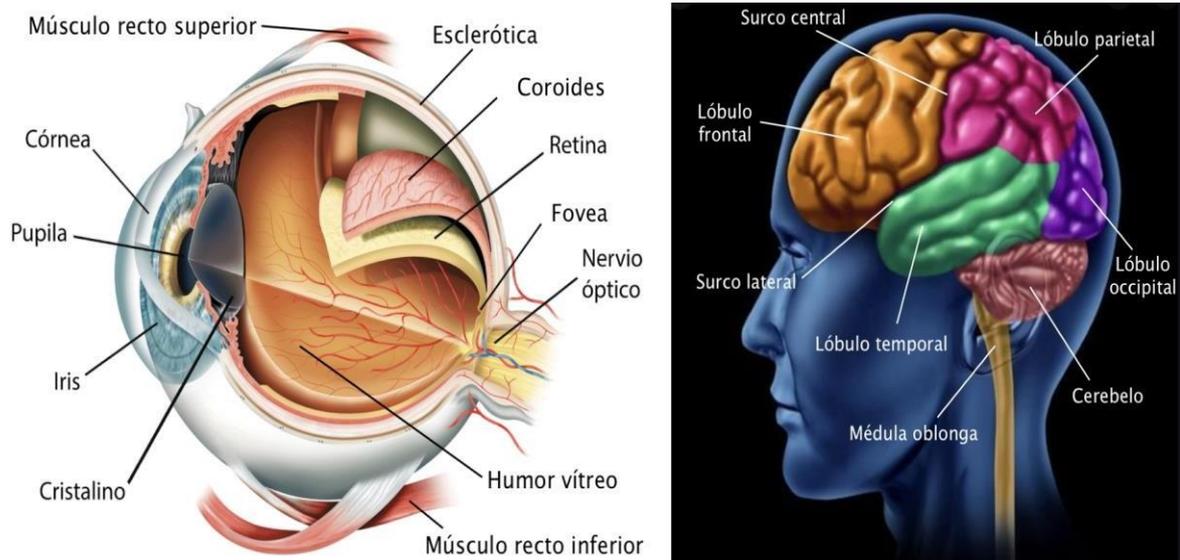


Figura 1. Sistema visual humano (izquierda) y lóbulos cerebrales (derecha).

Se conocen unas 30 áreas visuales localizadas en los lóbulos occipitales, parietal, temporal y frontal de la corteza cerebral. En cada área se extraen diferentes tipos de información de la señal de entrada visual que van desde los rasgos más elementales como las características de la imagen en el espacio, la orientación y el contraste (áreas del lóbulo occipital), hasta los rasgos más complejos tales como el movimiento, el color o la forma de los objetos (propio de las regiones parietal, temporal y frontal de la corteza cerebral).

Existe una organización jerárquica entre las áreas visuales, las cuales están altamente interconectadas, pero cada una de ellas está especializada en una parte del análisis funcional de la información. La cognición visual, o aplicación del conocimiento previo de la persona al momento de procesar una imagen, se logra también gracias a las interacciones recurrentes entre las distintas áreas visuales.

Al observar una figura, los ojos se mueven buscando las partes relevantes de la misma para construir la imagen del objeto observado. El ojo humano hace movimientos oculares rápidos (conocidos como movimientos sacádicos) para llevar la información de interés a la fovea. La fovea se encuentra en la parte central de la retina, tiene una alta concentración de conos y eso la convierte en una zona de alta resolución para la visión. El resto de la retina neural está cubierta mayoritariamente por bastones que son células fotosensibles monocromáticas especializadas en la detección del movimiento. Es decir, el ojo capta pequeñas partes de una misma escena para optimizar sus recursos. Si toda la escena fuera vista de una sola vez con alta resolución, el diámetro del nervio óptico debería ser incluso mayor que el propio globo ocular. Por este motivo, en el proceso de percepción visual primero tiene lugar la detección de los bordes del objeto que miramos, generándose luego el fusionado de las dos imágenes procedentes de los dos ojos. Este proceso tiende a construir la superficie de la imagen, añadiéndole textura, profundidad, orientación, movimiento y color (Marr y col, 1982; Ullman y col., 1996). Luego, se lleva a cabo el rellenado cognitivo del fondo, es decir, el cerebro construye la totalidad de la escena a partir de las pequeñas partes que visualiza mediante rápidos movimientos oculares prácticamente imperceptibles. Los ojos sólo son responsables de una parte de la percepción visual, el cerebro hace el resto, salvo, que lo que se esté mirando sea absolutamente nuevo. En este último caso la persona debería mirar atentamente cada

detalle de la imagen para construir la escena visual. En otras palabras, cada vez que percibimos un objeto, procesamos la información que obtenemos de él y lo interpretamos para darle sentido.

Desde una aproximación neurobiológica, la visión tiene una amplia representación cerebral con altos niveles de especialización funcional. Su anatomía y fisiología altamente especializada permite una respuesta específica para la identificación de luz, color, forma y movimiento, como así también niveles de complejización mayores, a partir de la interacción con otros sistemas sensoriales de retroalimentación que se van modulando, regulando y orientando mutuamente (Posner y col., 1982; Prather y col., 2004; Coello y col., 2007). Por otra parte, como veremos a continuación, desde una aproximación cognitiva la visión puede ser considerada como un proceso de representación mental factible de ser analizado en un carácter estructural y funcional (Jeannerod y Jacob, 2005; Coello y col., 2003).

1.2 Características de la pupila

La pupila está situada en la parte central del iris, es una abertura dilatada y contráctil debido a dos músculos controlados por los sistemas de fibras parasimpáticas (esfínter pupilar) y simpáticas (dilator pupilar) (Beatty y col., 2000). Su función básica es la de regular la luz que le llega a la retina de la que dependen sus cambios de tamaño. Dicha característica hace que pueda mejorar la calidad de la imagen que se forma en la retina, ya que el brillo, la definición de la imagen y la iluminancia retiniana dependen no solo de la de la fuente de luz externa sino también del área de entrada de la luz en la pupila del ojo. Los reflejos pupilares son una función de los Sistemas Nerviosos Parasimpático y Simpático para controlar la entrada de luz al ojo, contrayéndose con un estímulo luminoso y expandiéndose cuando hace falta luz. Estos reflejos son considerados un signo vital, puesto que permiten valorar la función cerebral (Laeng y col., 2012, para una revisión). El diámetro de la pupila es de aproximadamente 2- 4,5 mm en el ojo humano y en la oscuridad pueden provocarse dilataciones pupilares de más del doble (120%) del tamaño normal; éstas respuestas pupilares ocurren espontáneamente independientemente del control voluntario (Laeng y col., 2012). Es importante destacar que no solo la luz es responsable de los cambios pupilares, sino que los mismos varían dependiendo de la edad del individuo, la convergencia, la presencia de dolor, el equilibrio entre los Sistemas Simpático y Parasimpático, los medicamentos, como así también de las emociones y de las tareas cognitivas asociadas al esfuerzo mental (daremos una descripción más detallada sobre esto último en las secciones 1.3.2 y 1.5 del presente capítulo).

1.3 Pupilometria

La pupilometría (o medición de la conducta pupilar) se ha convertido en una medición valiosa para estudiar e inferir el funcionamiento del Sistema Nervioso Central, debido a que proporciona una medición de fácil acceso y ejecución (Laeng y col., 2012). La pupilometría se puede usar para estudiar procesos cognitivos en personas sanas, como así también alteraciones cognitivas en patologías tales como enfermedad de Alzheimer, trastornos neuropsiquiátricos, trastornos del sueño, migraña, enfermedad de Parkinson y disautonomías, entre otros (Pereira y col., 2014). También se utiliza la pupilometría para medir actividades fisiológicas como el ejercicio extremo y la carga cognitiva (Laeng y col., 2012). Hay un creciente número de estudios dedicados a analizar recursos atencionales y su correlación con la conducta pupilar analizándose, sobre todo, la relación entre atención y fluctuaciones pupilares rápidas (hippus). Estas últimas interacciones no pueden ser observadas a simple vista y reflejan cambios dinámicos del sistema nervioso central que subyacen a procesos cognitivos (Beatty y col., 2000). La Figura 2 muestra oscilaciones pupilares debidas a la atención durante una sesión de registro pupilométrico ante las presentaciones de tareas con componente cognitivo (Privitera y col., 2010). En este estudio, a los participantes se les presentaba secuencialmente un conjunto de blancos y, dentro de ese conjunto, ciertos blancos con características especiales que debían distinguirse de los demás. Cuando los participantes encontraban los blancos requeridos, sus pupilas aumentaban de tamaño.

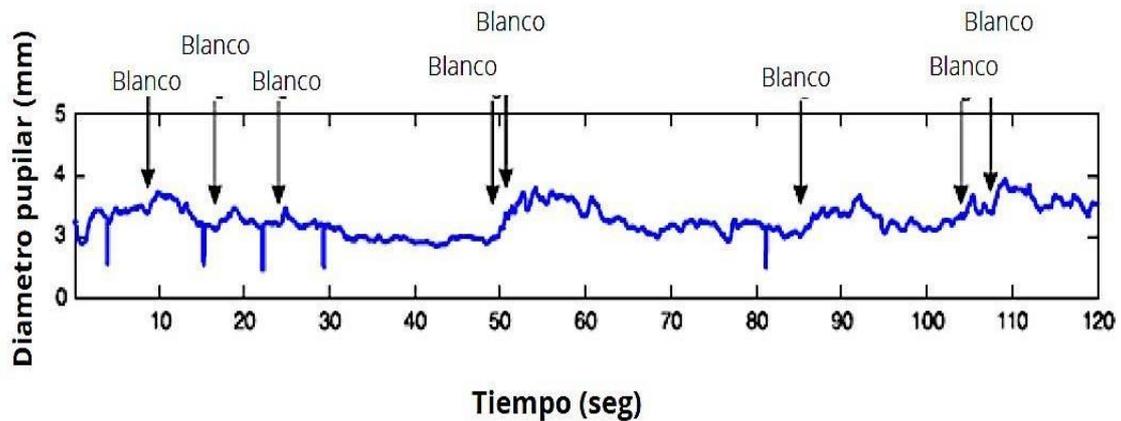


Figura 2. Dilatación pupilar como consecuencia de la aparición de blancos (Privitera y col., 2010).

Dada esta relación con los procesos de atención, se comenzó a considerar seriamente a la pupila como una “ventana a la mente” (Laeng y col., 2012, para una revisión). Diversos investigadores han asociado la midriasis (dilatación pupilar) con eventos personales o sociales, como un indicador de la actividad de procesamiento de la información, lo que implica un nivel mayor de excitación (Just y Carpenter, 1993). En un experimento reciente sobre la influencia de la atención en la midriasis, Yoshimoto y col., (2014) muestran que la novedad del estímulo visual afecta al sistema pupilar, donde el diámetro es mayor cuando se observan elementos no presentados anteriormente. Es decir, una mayor midriasis implicaría un mayor esfuerzo cognitivo (mayor carga cognitiva) dirigido a explorar estímulos nuevos. En el mismo estudio, los investigadores reportan cómo el diámetro pupilar se mantiene estable cuando los estímulos son conocidos, incluso habiéndose presentado de forma subliminal. Igualmente se ha evidenciado que, en etapas tempranas, los bebés de cuatro meses reaccionan dilatando la pupila ante escenas nuevas en su vida cotidiana (Gredebäck y Melinder, 2011). Este tipo de dilatación pupilar como reacción a algún elemento que capta la atención, se

mantiene a medida que avanza la edad sin reducirse su magnitud (Kim y col., 2000).

Como se sugiere más arriba, en la respuesta pupilar intervienen componentes de inhibición parasimpática (que explican la primera fase de dilatación) y de activación simpática (que explican la fase de contracción posterior) (Kuipers y col., 2013; Steinhauer y col., 2004). Se han reportado recientemente estudios donde se analiza la pupila como marcador de procesos atencionales (Privitera y col., 2010). Estos autores muestran que, en tareas sencillas y con instrucciones previas poco definidas, se observa no sólo una mayor dilatación (acorde a la novedad del estímulo tal y como mencionamos anteriormente), sino también una sorprendente constricción previa cuando se presentan los estímulos de la tarea sin participación de cambios luminosos. Sin embargo, cuando las instrucciones fueron claras y reducían la incertidumbre acerca del estímulo presentado, la pupila se contraía menos. Los intentos de detección precoz más relevantes en el ámbito de la investigación en pupilometría se refieren a las alteraciones progresivas y neurodegenerativas que abren importantes líneas de investigación. Por ejemplo, en varios trabajos se reportaron hallazgos de pacientes con probable Enfermedad de Alzheimer (EA), que mostraron un diámetro pupilar reducido comparados con un grupo control (Prettyman y col., 1997). Estos autores defienden que a la vista de sus resultados se puede inferir un compromiso en la función de la rama simpática en los enfermos con EA.

1.3.1 Conducta pupilar y vínculo con el núcleo Locus Coeruleus

El Locus Coeruleus (LC) es una estructura cerebral subcortical ubicada en el área posterior de la protuberancia del tronco encefálico, puntualmente en la base del cuarto ventrículo del cerebro (Figura 3). Esta estructura se distingue por albergar gránulos de melanina dentro de sus neuronas, los cuales le otorgan su coloración azul característica.

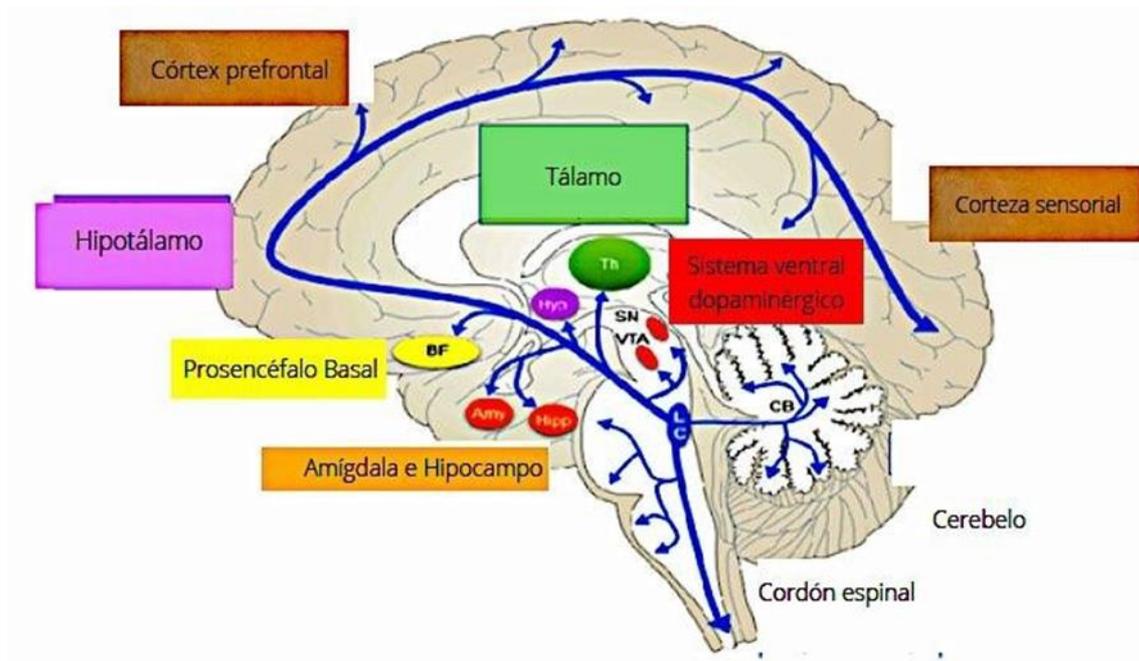


Figura 3. Localización del núcleo LC (en azul en la figura) y sus inervaciones hacia distintas áreas cerebrales (representadas con flechas azules).

El LC es el sitio principal para la síntesis cerebral de Noradrenalina (NA), suministrando la misma a todo el cerebro, el tronco encefálico, el cerebelo y la médula espinal (Samuels y Szabadi, 2008). La actividad neuronal de este núcleo ejerce un papel esencial en la integración de la información sensorial a la hora de regular la activación, la atención y ciertas funciones de la memoria. Según Laeng, (2012), el LC es una región clave en el Sistema Noradrenérgico activada por situaciones de estrés y también tiene un papel importante en la consolidación y la recuperación de recuerdos. Durante el proceso de envejecimiento o debido a ciertas enfermedades, este núcleo puede sufrir importantes pérdidas en cuanto a la población neuronal, lo cual contribuye al deterioro cognitivo de la persona y a la aparición de trastornos neurológicos.

Por lo tanto, el sistema LC-NA se constituiría como la fuente de inervación noradrenérgica más importante (Sara y Bouret, 2012) dado que esta proyección, sobre todo la referida a tálamo y córtex, tiene una gran influencia en la excitación mental (Berridge y Waterhouse, 2003) y en el desarrollo normal de los procesos cognitivos de una persona. Otras de sus funciones, son: el control y el ajuste de las influencias en el procesamiento sensorial de todas las modalidades a través de tálamo y córtex sensoriales (Devilbiss y Waterhouse, 2011), la regulación de la plasticidad sináptica del hipocampo (Harley, 2007), la participación en la consolidación de la memoria mediante sus proyecciones sobre la amígdala (McIntyre y col. 2012), la optimización de la memoria de trabajo y la capacidad de atención (Arnsten y col., 2012). En un trabajo del año 2010, Privitera y col. sugieren que la constricción pupilar observada ante estímulos novedosos actúa como un disparador con el que el Sistema Locus Coeruleus-Sistema Noradrenérgico (LC-NA) pueda situarse en modo fásico, para ejecutar adecuadamente la tarea, o en modo tónico, para obviar la misma y poder explorar el ambiente.

Dicha hipótesis está de acuerdo con la propuesta de Aston-Jones y Cohen (2005), que asumen que el sistema LC-NA se activa en respuesta a procesos de decisiones entre “explotación” y “exploración” de la tarea, siendo el diámetro pupilar basal un reflejo de la actividad tónica de dicho sistema, como puede observarse en la Figura 4. Estas respuestas podrían estar moduladas por estímulos o señales desde la vía visual genículo-cortical (Barbur, 2004).

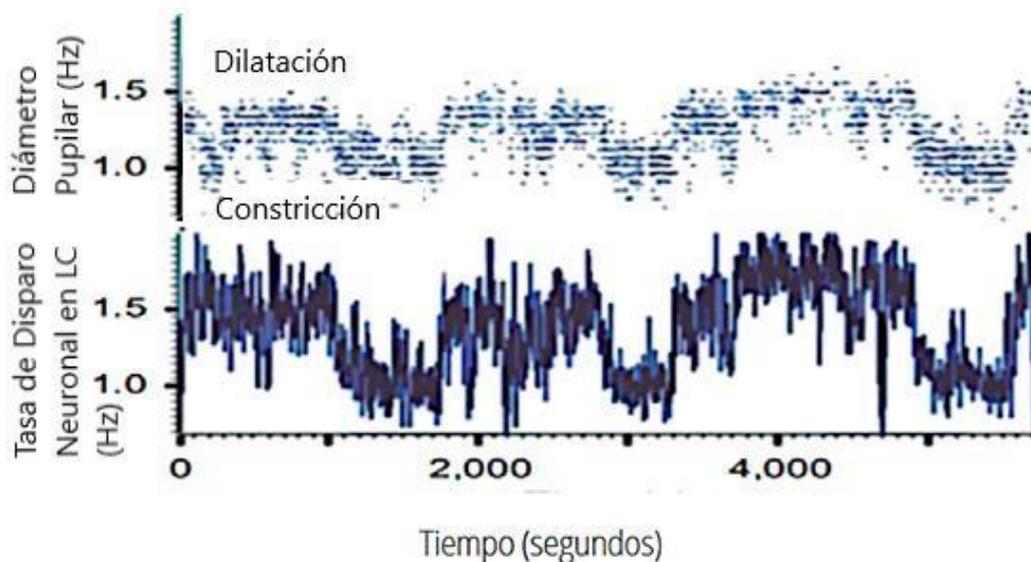


Figura 4. Relación entre el diámetro pupilar captado por una cámara de seguimiento ocular mientras se realizaba la fijación de la mirada sobre un punto y el índice de disparo basal de una neurona del LC tomado desde un electrodo en simultáneo con la respuesta pupilar. Las dos medidas muestran que están correlacionadas la una con la otra (Laeng y col; 2012).

El proceso de atención sostenido genera un aumento en la respuesta tónica de la pupila (Siegle y col., 2008). Inversamente, cuando el estado tónico es bajo, como en una persona que se fatiga después de la atención sostenida, la pupila comienza a fluctuar considerablemente mientras que su diámetro medio disminuye gradualmente (Beatty, 1982; Karatekin y col., 2007), prevaleciendo el modo fásico en lugar del tónico. La señal del modo fásico del LC ha sido conceptualizada como una señal de interrupción o como una señal de reseteo de la red (Bouret y Sara, 2004; Dayan y Yu, 2006) que permite a la red atencional detectar un nuevo destino o evento.

En síntesis, el LC envía sus densas inervaciones a las áreas del cerebro implicadas en los procesos selectivos de atención, como, por ejemplo, la corteza parietal y los colículos superiores, donde el neurotransmisor Noradrenalina (NA) juega un papel crucial en la energización del sistema cortical y la promoción de niveles adecuados para activar los mecanismos cognitivos (Laeng y col., 2014). La activación de las neuronas del LC inducirá una liberación de NA en sus numerosas regiones, incluyendo cortezas cerebrales, estructuras límbicas, tálamo, cerebelo, tronco del encéfalo y médula espinal. Este flujo del neurotransmisor podría facilitar el procesamiento sensorial y motor, además de generar cambios pupilares relacionados con el estímulo que se presente.

1.3.2 Pupila y emociones

Laeng y col., (2012) consideran a la dilatación pupilar como una ventana de acceso a la actividad no consciente, ya que ésta es un indicador del procesamiento complejo, porque en él confluyen tanto aspectos cognitivos como emocionales que son relevantes para diversas condiciones clínicas. El estudio de Hess y Polt (1960) representa el punto de entrada al campo científico sobre este tema. Estos formularon la hipótesis de la “contracción-aversión”, en la que se asume que el procesamiento de estímulos “agradables” o “interesantes” para el sujeto provoca aumentos en el tamaño pupilar, mientras que el procesamiento de estímulos “desagradables” estaría asociado a contracciones pupilares. En dicho estudio se midió el tamaño de las pupilas de hombres y mujeres adultos mientras están observando fotografías de adultos semidesnudos de ambos sexos, así como también fotografías de bebés, donde el grupo de mujeres fue el que obtuvo mayor dilatación pupilar comparado con el grupo de los hombres.

Las pupilas de los adultos de ambos sexos mostraron dilatación cuando veían los cuerpos semidesnudos del sexo opuesto. El patrón contrario se observaba en varones homosexuales (Hess y col., 1965). Otras fotografías emocionales negativas, como las de niños con heridas, provocaban contracciones pupilares en todos los sujetos expuestos (Hess, 1965). Años más tarde, Partala y Surakka (2003) utilizaron estímulos de carácter auditivo (sonidos positivos, negativos y neutros) con una intensidad afectiva. Tal y como esperaban, y confirmando la formulación de Janisse (1973) los tamaños pupilares fueron mayores para los sonidos emocionales, fueran positivos o negativos, en comparación con los sonidos neutros. Un estudio similar fue llevado a cabo en 2008 por Bradley y col. al presentar imágenes de distinto valor emocional. En esta investigación, además de medirse los tamaños pupilares

de los sujetos, también se evaluó la conductancia de la piel y la desaceleración cardíaca con el objetivo de develar una posible relación entre la midriasis y las ramas simpática y parasimpática del Sistema Nervioso Autónomo (SNA). Los resultados mostraron que, ante la visualización de las fotografías positivas y negativas, tanto la conductancia de la piel como el tamaño pupilar eran mayores que cuando se visualizaban las imágenes neutras. De hecho, ambas medidas fisiológicas se correlacionaron positivamente, lo que parecía revelar la implicación de la rama Simpática en la dilatación pupilar.

1.3.3 Pupila, memoria y estadios de la memoria

La capacidad del cerebro para retener información y recuperarla voluntariamente se define como *memoria* (Baddeley, 2007). Es decir, esta capacidad es la que nos permite recordar hechos, ideas, sensaciones, relaciones entre conceptos y estímulos que ocurrieron en el pasado.

La memoria almacena información y su funcionamiento eficiente depende de la interconexión y coordinación de cada estadio de memoria. Los principales e indispensables estadios de la memoria son los que describimos a continuación.

Codificación: La codificación es un proceso que comienza con la percepción y permite convertir los elementos percibidos en constructos que pueden ser almacenados en el cerebro y evocados posteriormente desde la memoria de corto plazo o de largo plazo¹. Es decir, el cerebro recibe y procesa la información para que luego pueda ser almacenada. La información recogida por los sentidos es adquirida por el cerebro y transformada en algún tipo de código o representación para que pueda ser aceptada por la memoria. Se forma la imagen unívoca para que pueda ser almacenada y luego recuperada.

¹ El concepto de memoria a corto plazo, se refiere a la capacidad para almacenar, mantener y recuperar cierta cantidad de información durante un corto periodo de tiempo (segundos o minutos). Esta capacidad es limitada, y cuando la información pasa a estar disponible por un tiempo indefinido, es cuando hablamos de memoria a largo plazo.

Almacenamiento: Se refiere al mantenimiento de la información para poder acceder a ella cuando se requiera. Supone una transferencia de una memoria transitoria a una forma o ubicación cerebral para su retención permanente o posterior acceso. Milner (1966) describe este fenómeno como un proceso posterior a la codificación que, presumiblemente, media en la transición de la memoria de almacenamiento a corto plazo a un almacén más permanente y estable a largo plazo. A este paso lo llama consolidación. La duración del proceso de consolidación es variable, pudiendo durar hasta meses o años, en función del tipo y la complejidad de la información. La consolidación es entendida a menudo como sinónimo de una huella mnésica duradera. Esta se forma a partir de la canalización automática de la información al hipocampo, donde presuntamente es integrada con los registros perceptivos y semánticos pertinentes. Una vez completada la consolidación ya no se precisa de la mediación del hipocampo; la huella de memoria es almacenada y se torna accesible a través de otras estructuras cerebrales (Moscovitch y Winocur, 1992).

Recuperación: Representa el proceso consciente de acceso a la información almacenada (Delis y Kramer, 2000). En el ámbito de la memoria, el proceso de recuperación consiste en la evocación de sucesos, eventos o información almacenada en el pasado. Desde el punto de vista del procesamiento de la información, este es uno de los tres procesos principales de la memoria, junto a la codificación y al almacenamiento.

1.4 Memoria de corto plazo: memoria visual integrativa y memoria visual asociativa

Dentro de la Memoria de Corto Plazo o Memoria de Trabajo (MT) se encuentran la Memoria Visual Integrativa y la Memoria Visual Asociativa. La memoria Visual Integrativa de Corto Plazo permite vincular múltiples elementos para armar la representación visual unificada de algo, para crear la identidad de un objeto, la imagen unificada de una figura (Von der Malsburg y col., 1999; Baddeley y col., 2000, 2007; Tulving, 2002; Zimmer y col., 2006; Parra y col., 2011).

Parra y col., (2015), como veremos más adelante, proponen que la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo se encuentra afectada en personas con EA, pero no en otras patologías que afectan otros tipos de memoria (e.g., Enfermedad de Parkinson (EP), Depresión mayor y Demencia Fronto temporal (DFT), sugiriendo que las alteraciones de la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo serían sensibles y específicas de la Enfermedad de Alzheimer. Esta memoria tiene su asiento en la corteza entorrinal, perirrinal y en el estriado dentro del Lóbulo Temporal Medio y es independiente del hipocampo (Parra y col., 2011).

Por otro lado, la Memoria Visual Asociativa de Corto Plazo permite codificar y recordar cada color o características de una imagen, donde cada color o características es percibido como una unidad. Se encuentra alojada en el hipocampo y no se encuentra afectada en la Enfermedad de Alzheimer cuando la misma es leve y aún no ha afectado significativamente el lóbulo temporal medio (Mayer y col., 2007; Parra y col., 2011).

Como veremos más adelante (en la sección METODOS), la forma en que la persona codifica lo que está visualizando – dada la instrucción que se le da sobre qué debe visualizar durante la tarea- involucrará la utilización de una u otra memoria. Como vimos anteriormente, la tarea a realizar puede conducir a los ojos durante la exploración visual, activando funciones cognitivas complejas, como aquellas relacionadas con la atención y la memoria (Yarbus 1967, Rayner 1998).

1.5 Relación entre los cambios pupilares y la memoria

El estudio de Beatty (1966) muestra que, incrementando la carga de la memoria (esto es, incrementando la cantidad de dígitos que la persona debía recordar), se producía un fuerte aumento en la dilatación de la pupila. Hess (1965) también exploró los cambios pupilares asociados con el esfuerzo cognitivo. Concretamente, observó que el diámetro pupilar aumentaba a medida que el experimentador proponía multiplicaciones de mayor dificultad (Hess y Polt, 1964). Los mismos resultados se obtuvieron durante una tarea de deletreo de palabras: a mayor uso de la Memoria de Trabajo -manteniendo activa la manipulación mental de letras- se apreciaba una mayor midriasis (Hess, 1965). Durante la década de los 60 y los 70 otros investigadores también llegaron a las mismas conclusiones a través de diferentes trabajos experimentales: tareas de recuerdo (Elshtain y Schaefer, 1968; Peavler, 1974), cálculo mental (Bradshaw, 1967; Payne y col., 1968; Schaefer y col., 1968) y tareas de procesamiento continuo (Bradshaw, 1968). En todos los estudios se confirmó una relación entre aumento pupilar y el grado de procesamiento cognitivo y uso de la memoria, por lo que Kahneman (1973) propone a la conducta pupilar como un indicador relevante de los recursos atencionales y nemotécnicos implicados en la concreción de una tarea. En un trabajo previo de nuestro grupo (Fernández y col., 2017) mostramos que había un efecto diferenciado en la dilatación de la pupila cuando las personas leían proverbios y se relacionó con activaciones en la memoria semántica (i.e., memoria que vincula conceptos e ideas). En el experimento de nombrar colores bajo el efecto stroop (el efecto stroop es la demostración de la interferencia en el tiempo de reacción de una tarea, en este caso los participantes tienen que decir el color de la palabra que ven escrita, siendo que esa palabra hace referencia a otro

color, por ejemplo la palabra rojo, coloreada en verde), Kahneman (1973) muestra que existe una relación directa entre el tamaño pupilar y la dificultad de la tarea a procesar hasta que el sujeto encuentra la respuesta o deja de intentarlo, momento en el que las pupilas vuelven a contraerse. En la misma línea, Jones y col., (2010) y Piquado y col., (2010) sostienen que el aumento en el diámetro de la pupila es un buen indicador del nivel de esfuerzo o carga mental en tareas cognitivas.

1.6 Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (EA) se presenta como un trastorno cerebral irreversible.

En el inicio de la enfermedad las personas experimentan pérdida de memoria y confusión, generalmente asociadas con alteraciones en la memoria propias del envejecimiento normal (Waldemar y col; 2007). La enfermedad se caracteriza por pérdida de neuronas y de sinapsis en la corteza cerebral y ciertas regiones subcorticales. Esta pérdida tiene como resultado una atrofia grave de las regiones afectadas, incluyendo degeneración en los lóbulos temporal y parietal y en partes de la corteza frontal y del giro cingulado (Wenk, 2003). A nivel molecular, la EA se caracteriza neuropatológicamente por los siguientes marcadores:

1. Las placas neuríticas que corresponden a depósitos extracelulares de proteína β -amiloide y la reacción destructiva de procesos neuríticos vecinos.
2. Los ovillos neurofibrilares (ONF) que corresponden a lesiones de la citoarquitectura intracelular por hiperfosforilación de la proteína TAU.

La interacción entre estos dos tipos de lesiones ha estado siempre en el centro del debate de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer y ha dado lugar a dos escuelas: la Tauísta que sostiene que el daño neurofibrilar es el evento fundamental de la enfermedad mientras los depósitos de β -amiloide corresponderían a un evento secundario y la escuela Baptista que, por otro lado, sostiene que el evento central de enfermedad de Alzheimer es el depósito de β -amiloide en tanto que los ovillos neurofibrilares serían un evento secundario o independiente. Aunque la discusión de estas dos posiciones continúa, hoy en día las investigaciones han aportado nuevos elementos al debate entre estas dos posiciones teóricas. Los depósitos de β -amiloide

en los casos familiares de EA dependen de un mal corte de la proteína precursora de amiloide (PPA) debido a mutaciones en el gen que la codifica en el cromosoma 21 o de mutaciones en los genes de Presenilina 1 o Presenilina 2 en cromosomas 14 y 1, respectivamente. Por otro lado, se conoce que mutaciones en el gen de la proteína TAU en el cromosoma 17 dan lugar a la producción de ovillos neurofibrilares que producen neurodegeneración y muerte celular en demencias fronto-temporales.

La conectividad neuronal sufre cambios de forma temprana en el curso de la afección, modificando el procesamiento controlado de la información y las sinapsis neuronales (Landes y col., 2003; Bäckman y col., 2005). En síntesis, las placas seniles compuestas de agregados Beta amiloides (AB) y de ovillos neurofibrilares (NFT) compuestos de proteínas TAU hiperfosforiladas son consideradas características distintivas de la enfermedad y son los principales componentes histológicos del tejido cerebral post mortem. La neurodegeneración se caracteriza por atrofia, pérdida sináptica, pérdida neuronal y gliosis (proliferación de células de la glía dentro del parénquima cerebral, de carácter cicatricial.)

A nivel cognitivo, los pacientes con EA con deterioros leves a moderados suelen mostrar dificultades de aprendizaje y deterioro en la memoria ejecutiva; tales síntomas son utilizados habitualmente para diagnosticar la patología. Sin embargo, con los métodos tradicionales de evaluación, tales fenómenos suelen pasar desapercibidos cuando la enfermedad está en sus inicios

1.6.1 Fases de la enfermedad de Alzheimer

Clínicamente, la EA se divide en 3 fases: Alzheimer Leve, Alzheimer Moderado y Alzheimer Grave. En la fase Leve, los individuos muestran las primeras fallas cognitivas, incluyendo anormalidades en los depósitos de beta amiloide (Jack y col., 2010). Durante esta fase, se piensa que AB es acumulada gradualmente, creando alteraciones funcionales y estructurales que conducen a Deterioro Cognitivo Leve (Sperling, 2007). En esta fase es muy difícil discriminar Deterioro Cognitivo Leve por envejecimiento, depresión u otras patologías relacionadas con la Enfermedad de Alzheimer. Por eso es muy importante contar con biomarcadores que permitan llegar aun diagnóstico preciso. La Fase Moderada se define por el inicio de los síntomas cognitivos vinculables a Enfermedad de Alzheimer (definida así en el 2015, por la Asociación de Alzheimer, Estados Unidos). A medida que progresa la enfermedad, aparece la confusión mental, irritabilidad y agresión, cambios del humor, trastornos del lenguaje, pérdida de la memoria de corto plazo y una predisposición a aislarse a medida que declinan los sentidos del paciente. Finalmente, en la Fase Grave, se presenta una marcada alteración de todas las facultades cognitivas y de los procesos fisiológicos básicos conduciendo en poco tiempo a la muerte.

1.7 Memoria visual, pupila y enfermedad de Alzheimer

Dentro de la Memoria de Corto Plazo o Memoria de Trabajo, hay una memoria que usamos continuamente y es la Memoria Visual de Corto Plazo (MVCP). La misma se define como la capacidad para retener información visual (por ejemplo, letras, figuras, colores, caras, etc.) durante un período breve de tiempo. El procesamiento de la información visual se lleva a cabo principalmente por procesos conocidos como top-down, definidos como procesos cognitivos que dirigen los movimientos oculares requeridos para procesar determinadas figuras (Molitor y col., 2015). Los movimientos oculares en general, y la conducta pupilar en particular permiten cuantificar la adquisición y la acumulación de información en la memoria. Por lo tanto, las alteraciones en la conducta pupilar podrían arrojar luz sobre posibles déficits de la memoria. En adelante también consideraremos a las respuestas pupilares como una herramienta robusta para medir la integridad de la Memoria Visual Asociativa de Corto Plazo (MVACP, definida más arriba). Unsworth y Robison (2017) afirmaron que la capacidad de la MVACP está relacionada con la variación en el funcionamiento del Sistema LC-NA, y la desregulación de este sistema explica las diferencias individuales en las tareas que involucran a la MVACP. Pietto y col., (2016) y Van der Wel y Steenbergen, (2018) también vinculan la respuesta pupilar provocada por cambios en la demanda de recursos mnésicos con el funcionamiento de la MVACP, donde los diámetros pupilares máximos estaban directamente relacionados con el aumento de la acumulación de memoria y la demanda cognitiva. También se ha encontrado que la pupila se incrementa hasta alcanzar un umbral, en donde las demandas de procesamiento superan los

recursos disponibles para almacenar con éxito la información (Granholm, y col., 1996; Unsworth y Robison, 2015).

En trabajos previos (Fernández y col, 2018; Fernández y col, 2019), investigamos el vínculo entre las alteraciones oculares (i.e., amplitud sacádica y duración de la mirada) y el rendimiento tanto en la MVACP como en la Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo (MVICP). Comparamos una muestra de adultos sanos con una muestra de adultos con Alzheimer leve. Mostramos que aquellas personas con EA leve tenían alteraciones oculares vinculables a déficits en la MVICP, pero no así en la MVACP, donde esta última aún se encontraba lo suficientemente preservada como para poder reconocer asociaciones de colores en los objetos a visualizar. Por el contrario, los pacientes con EA leve mostraron déficits en su MVICP, puesto que no fueron capaces de integrar los colores de las figuras como partes de un constructo único, sugiriendo alteraciones a nivel de corteza entorrinal, perirrinal y corteza visual ventral.

1.8 Envejecimiento sano, envejecimiento patológico y Memoria Visual Integrativa de Corto Plazo

El envejecimiento está asociado con una amplia gama de cambios y una disminución gradual en varias modalidades cognitivas y biológicas, siendo la memoria uno de los dominios cognitivos afectados (Naveh Benjamin y col., 2018; Pliatsikas y col., 2018). Sin embargo, no todos los aspectos de la memoria parecen verse afectados del mismo modo por el envejecimiento. Los adultos mayores sanos siguen conservando la capacidad de procesar información compleja en su MVACP y en su MVICP (Rhodes y col., 2016; Brockmole y Logie, 2013). Las tareas que se utilizan para medir preservación –o rendimiento normal- tanto de MVACP como de MVICP tienen gran cantidad de estudios que los validan (Parra y col., 2015, para una revisión).

Parra y col., (2009) investigaron la relación entre MVICP y la MVACP en personas con EA y en personas sanas y encontraron que los adultos sanos no mostraron rendimiento diferente cuando compararon su MVICP y su MVACP. Por el contrario, las personas con EA se desempeñaron significativamente peor cuando debieron usar su MVICP. Ellos llegaron a la conclusión de que la EA afecta gravemente a los mecanismos responsables de mantener los objetos integrados en la MVICP. Estos hallazgos están respaldados por estudios volumétricos donde se analiza la disociación entre la MVACP y la MVICP a nivel de la corteza parietal, temporal y occipital (Koppara y col., 2015).

Mediante la manipulación de la carga de memoria, se puede explorar la capacidad de la MVICP y refinar el procedimiento de evaluación y la especificidad del MVICP como una herramienta de diagnóstico para la EA (Fernández y col., 2018). Por otra parte, se encuentran diferentes niveles de rendimiento a lo largo del espectro de la EA.

Por ejemplo, los portadores asintomáticos que conducen a EA familiar por mutación genética (Parra y col., 2010; Parra y col., 2011), y los pacientes con Enfermedad de Alzheimer Leve, presentan alteraciones selectivas en la etapa de codificación de la memoria, en comparación con personas sanas (Koppara y col., 2015).

Incorporando el análisis de la conducta pupilar a los test que se utilizan para medir desempeño de MVACP y MVICP, se puede explorar más a fondo la interacción entre ambas memorias y la forma en que los EA procesan la información. Parra y col. (2019) lograron clasificar EA Leve con 76% de sensibilidad y 78% de especificidad usando la respuesta conductual de las personas (i.e., respuesta verbal). El análisis de la conducta pupilar que proponemos en esta Tesis, permite clasificar con mayor sensibilidad y especificidad a las personas con EA, comparado con los resultados reportados a la fecha.

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Los objetivos de este trabajo de tesis son:

Objetivo General

Modelar la conducta pupilar y medir el impacto de la carga cognitiva en personas sanas y en personas con EA.

Objetivos específicos

Analizar el comportamiento de la pupila en procesamientos que requieren el uso de la MVACP y de la MVICP en personas sanas y en personas con EA.

Analizar la conducta pupilar como potencial biomarcador para el diagnóstico de EA.

Hipótesis

Dado que el tamaño de la pupila refleja las demandas de procesamiento, nuestra hipótesis es que, en tareas que involucren a la MVICP, el tamaño de la pupila aumentará más en los individuos correspondientes al grupo Control que en los individuos con la enfermedad de Alzheimer. Además, alteraciones en el comportamiento pupilar en tareas que involucren a la MVICP, permitirían discriminar la presencia de la Enfermedad de Alzheimer a nivel individual.

3. MÉTODOS

3.1 Participantes

Evaluamos 30 sujetos Controles (todos con lenguaje nativo en español) con una edad media de 69 años (SD= 3.6) y una media de educación de 17.1 (SD= 2.1) (en años), y 18 pacientes con AE leve (todos con lenguaje nativo en español) con una edad media de 68 años (SD= 2.2) y una media en educación de 13.6 años (SD= 1.5), ($p = 0.23$ y $p = 0.002$, edad y educación, respectivamente). La tarea que utilizamos ha demostrado ser insensible al nivel de educación del individuo (Parra y col., 2011; Yassuda y col., 2020), por lo tanto, no es importante tener en cuenta la media de educación para el análisis estadístico; dicha característica convierte a esta tarea en un marcador cognitivo transcultural para la EA (Della Sala y col, 2016).

El grupo de Pacientes Controles, fue evaluado por un profesional médico para descartar patologías que puedan alterar el comportamiento pupilar, además se les indicó análisis de sangre, orina y test neuropsicológicos para evaluar su estado cognitivo.

Los pacientes con EA fueron diagnosticados bajo el criterio del test DSM-IV, Diagnostic and Statistical Manual of Mental por profesionales psiquiatras. Los pacientes fueron reclutados en la Clínica Privada Bahiense, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. Todos los pacientes con EA fueron sometidos a una entrevista de detalles clínicos acerca de su historia médica, a un examen neurológico y físico y a análisis completos de sangre y orina para descartar cualquier patología previa que pueda interferir en la participación del estudio. Los pacientes fueron excluidos si:

- a. sufrían de alguna condición médica distinta a la demencia, que podría afectar su funcionamiento cognitivo,
- b. tenían evidencia de lesiones vasculares en estudios previos de tomografía computada o Resonancia magnética nuclear,

- c. tenían evidencia de un diagnóstico Axis (DSM-4)
- d. estaban bajo tratamiento con Inhibidores colinesterásicos (ICE),
- e. estaban tomando hipnóticos, drogas sedativas o tranquilizantes mayores,
- f. eran pacientes con un diagnóstico de enfermedad oftalmológica, así como glaucoma, cataratas, visión binocular o degeneración macular,
- g. sufrían daltonismo.

La agudeza visual fue de 20/20 o corregida a 20/20 (mediante el uso de anteojos). La investigación se adhirió a los principios de la declaración de Helsinki, es decir todos los pacientes y todos los sujetos de control firmaron un consentimiento informado antes de su inclusión en el estudio.

La puntuación media de los pacientes EA en el test Mini-Mental State Examination (MMSE) fue 23.1 (SD= 2.2) y en los controles de 29.6 (0.5). La puntuación media de los EA en el ACE-R (Adenbrook's Cognitive Examination) fue de 66.4 (SD= 15.7) y en los controles de 97.2 (SD=2.8). La puntuación en EA en el Ineco Frontal Screen (IFS) fue de 18.9 (SD=2.3), y en los controles fue de 28.8 (SD=0.8). Finalmente, la puntuación de los EA en el Trial Making Test (TMT) fue de 34.6 (SD=1.4), y en los controles fue de 66.5 (SD=0.8). Los valores de los test neurocognitivos obtenidos para el grupo EA, sugieren una demencia leve.

Por último, no hubo una correlación significativa entre pupila y MMSE ($r=0.04$, $p=0.08$), pupila y ACE-R ($r=0.11$, $p=0.58$), pupila y IFS ($r=0.10$, $p=0.57$), pupila y TMT ($r=0.07$, $p=0.68$).

3.2 Estímulo visual

Los estímulos fueron presentados en un monitor de 20" LCD (1024 x 768 pixeles de resolución). Los participantes se sentaron a una distancia de 60 cm del monitor. Los movimientos de la cabeza fueron minimizados usando una mentonera (aparato para apoyar el mentón). Los participantes fueron colocados en la posición más cómoda posible para no mover la cabeza y poder fijar la mirada en la pantalla.

Los movimientos oculares fueron grabados con un EyeLink 1000 Desktop Mount (SR Research) eyetracker, con un tiempo de muestreo de 1000 HZ y una resolución de 20-s arc. Todas las grabaciones y las calibraciones fueron binoculares. La mirada de los participantes fue calibrada con una grilla de 13 puntos para ambos ojos. Los experimentos comenzaron después de validar la calibración.

El estudio consistió en dos evaluaciones; estas fueron:

- "Identificación de Combinaciones de Colores", con el objetivo de evaluar la preservación de la MVICP;
- "Identificación de Nuevos Colores" para evaluar la preservación de MVACP.

En ambos casos, el estudio se dividió en 42 interacciones: las primeras 10 imágenes fueron de prueba para que el paciente se familiarice con la forma en que aparece el estímulo visual, mientras que las siguientes 32 proveyeron los datos útiles (estudio per se).

Cada interacción, a su vez, estuvo compuesta de los siguientes pasos:

- Se mostró una cruz roja durante 250 ms.

- Se mostró la primera imagen durante 2 segundos. En esta imagen aparecieron en la pantalla dos figuras (Figura 5).
- Se mostró una pantalla de transición vacía durante 900 ms.
- Se mostró la segunda imagen (imagen de pregunta) durante 10 segundos. En este intervalo el paciente debió decidir si la segunda imagen era igual o diferente a la primera. En función de lo que el paciente decidió, se presionaron las teclas 'S' ("same") si las imágenes fueron iguales o 'D' ("different") si fueron diferentes.

En cada prueba, las figuras cambiaron de posición azarosamente. El lugar donde aparecen las figuras no altera la forma en que las personas almacenan y luego recuerdan cómo se combinan los colores. En Parra et al., 2011, muestran que el lugar donde se presentaron las Figuras en el monitor no mejoró ni empeoró el desempeño de los participantes.

- **Identificación de Combinaciones de Colores para evaluar preservación en la MVICP (TMVICP)**

Para la identificación de combinaciones de colores se le explicó a la persona que en la pantalla aparecerían dos figuras , donde cada figura tenía dos colores. La persona debía recordar cómo se combinaban los colores de cada figura porque luego debía reconocer los colores combinados de diferentes maneras. Es decir, los colores eran los mismos

pero cambiaba la forma en que se combinaban, un color presente en una figura pasaba a estar en la otra y viceversa (Figuras 5 y 6).

- **Identificación de Colores Nuevos para evaluar preservación en la MVACP (TMVACP)**

Para la identificación de colores nuevos, se le explicó a la persona que aparecerían 2 figuras donde cada figura tenía dos colores. La persona debía recordar cuáles eran los colores que aparecían en cada figura (y no su combinación) porque luego aparecería un nuevo color en cada figura (dos colores continuaban siendo iguales y dos serían nuevos colores) (Figuras 7 y 8). La TMVACP es una tarea más sencilla, identificada como basal.

Las imágenes consistieron en figuras formadas por cuadrados de un color con una cruz de distinto color inscripta en dicho cuadrado. La proporción de los colores, así como el brillo y la tonalidad de las figuras, estuvieron balanceados. En el estudio utilizamos dos variantes, las cuales fueron complementarias y definieron las diferencias entre las imágenes:

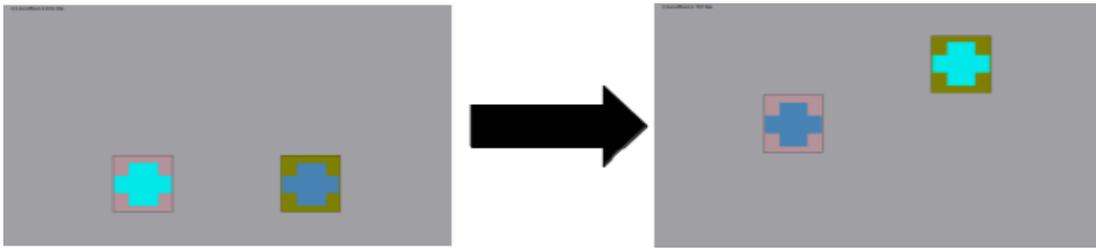


Figura 5. Ejemplo de “Identificación de combinaciones de colores” para evaluar integridad en la MVICP donde las figuras son diferentes porque se han intercambiado los colores entre sí.

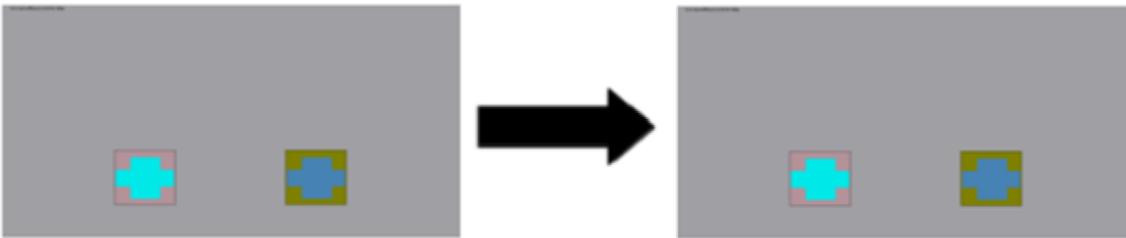


Figura 6. Ejemplo de “Identificación de combinaciones de colores” para evaluar integridad en la MVICP donde las figuras son iguales.

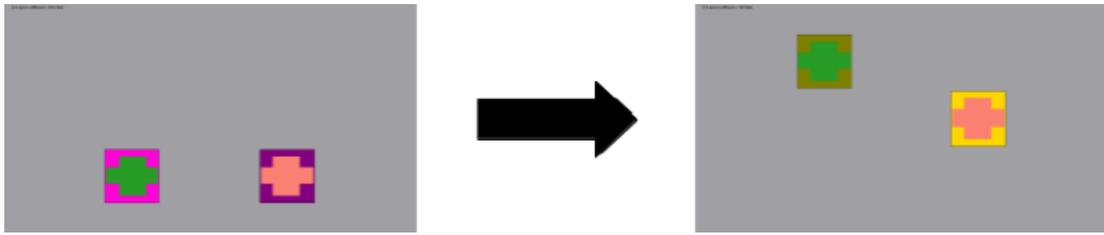


Figura 7. Ejemplo “Identificación de colores nuevos” para evaluar preservación en la MVACP donde las figuras son diferentes porque se introdujeron colores nuevos.

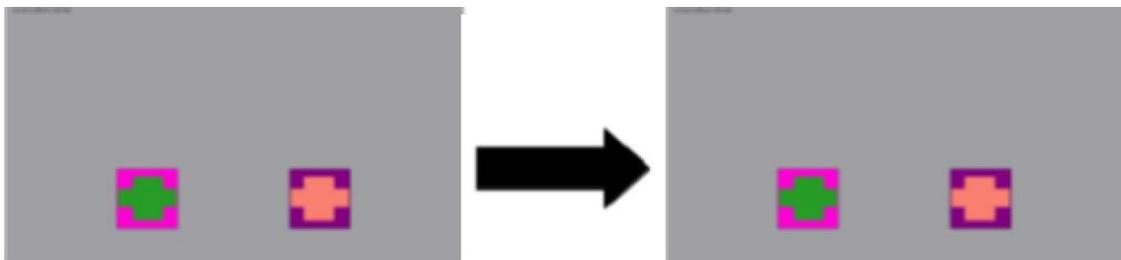


Figura 8. Ejemplo “Identificación de colores nuevos” para evaluar preservación en la MVACP donde las figuras son iguales.

3.3 Análisis estadístico

En este trabajo de Tesis, se realizaron análisis estadísticos utilizando el programa RStudio, versión 3.1.1 (RDevelopment Core Team). Para ordenar la información, ordenamos a los sujetos en Controles y pacientes con EA y como condición dentro de los sujetos se diferenció entre la Tarea que involucra a la MVACP (TMVACP) y la Tarea que involucra a la MVICP (TMVICP), y entre las distintas etapas de memoria (es decir, Codificación y Recuperación).

Utilizamos Modelos Lineales (LM) para modelar el efecto de la pupila en TMVICP, TMVACP durante la Codificación y el Reconocimiento en los grupos Control y EA.

Este análisis es posible gracias a la función lmer4 (Bates y Sarkar, 2007) en el entorno R de estadística. Utilizamos la librería "lmer" del paquete lme4 para estimar los coeficientes fijos y aleatorios. Este paquete se suministra en el sistema R para la computación estadística (versión 3.1.1). Los efectos fijos en la terminología del LM corresponden a los coeficientes de regresión en modelos de regresión lineal estándar.

Analizamos con ANOVA las diferencias en las personas Controles durante la TMVACP y en TMVICP en Codificación y en Reconocimiento y con los pacientes EA durante la TMVACP y en TMVICP en Codificación y en Reconocimiento.

4. RESULTADOS

Cuando evaluamos la respuesta conductual de los participantes (es decir, cantidad de veces que los participantes responden “Igual” o “Diferente”), observamos que en la tarea TMVICP, las respuestas correctas efectuadas por los individuos Controles alcanzaron un 84%, mientras que en los individuos con EA estos valores solo llegaron al 64% ($p < 0.001$) (Figura 9). Por el contrario, cuando evaluamos la tarea TMVACP no observamos diferencias significativas entre los individuos Controles y aquellos que padecen EA (Figura 9).

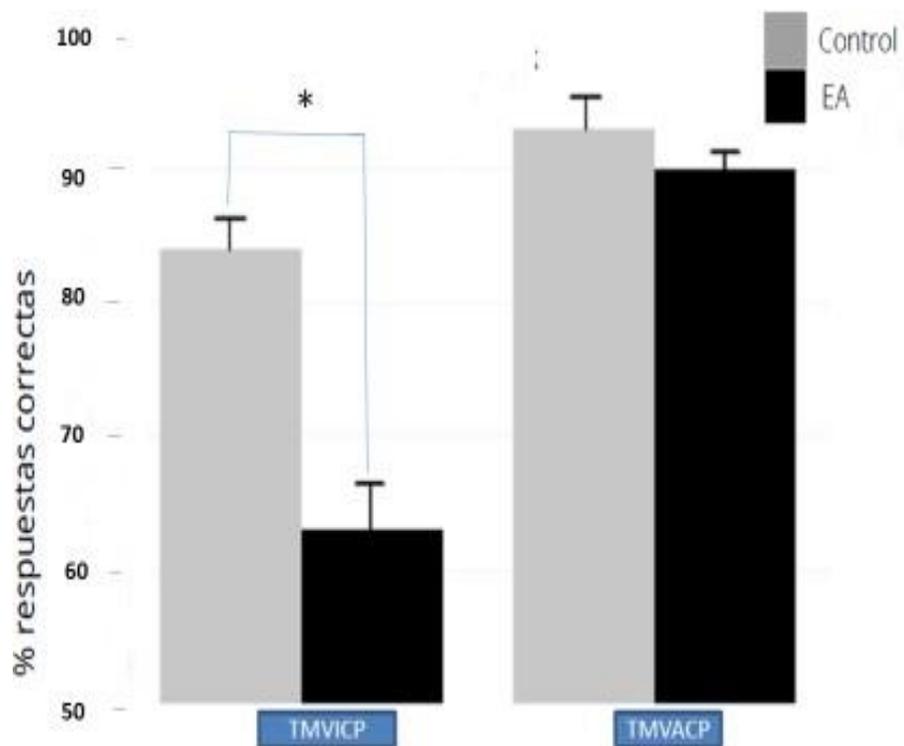


Figura 9. Respuesta conductual (verbal). Porcentaje de reconocimientos correctos durante TMVICP y TMAVCP para personas sanas (Controles) y Pacientes con EA.

(*: $p < 0.001$)

También se realizaron comparaciones ad-hoc: (a) TMVACP: EA vs. Controles, (b) TMVICP: EA vs. Controles, (c) EA: TMVACP vs. TMVICP y (d) Controles: TMVACP vs. TMVICP. Esto reveló que en (b) el desempeño del grupo EA durante TMVICP fue significativamente más bajo que el del grupo Control ($p < 0.001$), y que en (c) EA tuvo un menor desempeño en TMVICP que en TMVACP ($p < 0.001$). Ningún otro resultado (esto es, (a) y (d)) fue significativo. Estos resultados concuerdan con los reportados por Parra y col., (2011) y por Fernández y col., (2018).

4.1 Promedio de predictores y conducta pupilar

La media de la conducta pupilar considerando todas las variables juntas (Control, EA, TMVICP, TMVACP, Codificación y Reconocimiento) mostró una variación global muy importante durante el procesamiento de información ($t=403,91$), indicando que la conducta pupilar es muy sensible a la carga cognitiva (F-statistic: 84.41, p-value: < 0.0001). Cuando analizamos la modulación pupilar considerando las interacciones entre TMVACP vs. TMVICP, las mismas revelaron, en términos generales, que la dilatación pupilar fue menor en la TMVACP que en la TMVICP ($t=-6.45$). Por otro lado, al analizar los momentos de Codificación vs. Reconocimiento notamos un incremento significativo en la pupila, donde la misma se incrementó más durante la etapa de Reconocimiento ($t=11,12$) (Ver Tabla 1 y Figura 10).

| | Media | Error Standard | t-value |
|---|--------|----------------|---------------|
| Diámetro Pupilar (Píxeles) | 472.55 | 1.17 | 403.91 |
| Tareas de Memoria: TMVICP vs. TMVACP | -30.19 | 4.68 | -6.45 |
| Estadios Memoria: Codificación vs. Reconocimiento | 17.24 | 1.55 | 11.12 |
| Control vs. EA vs Tareas de Memoria | | | |
| Control vs. EA vs. TMVICP | 47.43 | 3.32 | 14.28 |
| Control vs. EA vs. TMVACP | 4.92 | 3.29 | 1.49 |
| Control vs. EA vs. Tareas de Memoria vs. Estadios de Memoria | | | |
| Control vs. EA vs TMVICP vs Codif. vs. Recon. | 19.27 | 4.31 | 4.46 |
| Control vs. EA vs TMVACP vs Codif. vs. Recon. | 2.8 | 4.45 | 0.63 |

Tabla 1. Tamaño pupilar y estadios de Memoria (Codificación vs. Reconocimiento), Tareas de Memoria (TMVICP and TMVACP) y Condición (EA vs. Control) como función de salida del Modelo; t-value = ± 1.95 se considera como significativo.

4.2 Interacción de Condición (Controles y EA) vs. Tarea de Memoria (TMVICP y TMVACP)

La siguiente evaluación consistió en analizar de qué manera el tamaño de la pupila se diferenciaba durante TMVICP cuando comparamos EA y Controles. Como se puede ver en la Tabla 1 y en la Figura 10, la pupila se incrementó significativamente en los sujetos Control con respecto a los pacientes con EA durante la realización de la TMVICP ($t=14,28$). Al contrario -y en concordancia con los resultados provenientes de la respuesta conductual-, la diferencia entre sujetos del grupo Control y pacientes con EA no fue significativa al realizar la TMVACP ($t=1,49$), sugiriendo que tanto Controles como EA modulan sus pupilas en forma similar durante la TMVACP (ver Tabla 1 y Figura 10).

4.3 Interacción de Condición (Controles y EA) vs. Tarea de Memoria (TMVICP y TMVACP) vs. Estadio de Memoria (Codificación y Reconocimiento).

Al analizar los estadios de memoria, es decir cuando comparamos la modulación pupilar durante la Codificación y el Reconocimiento, la dilatación de las pupilas en los pacientes con EA fue significativamente menor que la dilatación de la pupila de los Controles en la TMVICP ($t=4.46$), como se puede observar en la Tabla 1. En cambio, tal efecto sobre la pupila no fue significativo al comparar durante la Codificación y el Reconocimiento los grupos Controles y EA en la TMVACP, ($t=0.63$) (Tabla 1 y Figura 10).

Análisis post-hoc (ANOVA), permitieron evaluar la interacción de Codificación vs. Reconocimiento en EA y Codificación vs. Reconocimiento en Controles, por separado, y EA vs Controles por Codificación y EA vs Controles por Reconocimiento, por separado. Estos contrastes revelaron que la pupila de los pacientes con EA durante la Codificación fue significativamente más chica que durante el Reconocimiento ($t=9.83$; $p=0.0001$).

Tal discrepancia fue mucho menos pronunciada en controles ($t=2.35$; $p=0.01$). Es más, las diferencias entre EA y Controles durante la Codificación fueron mucho más grandes ($t=11.12$ $p=0.0001$ que durante la etapa de Reconocimiento $t=7.62$; $p=0.0001$). Los análisis llevados a cabo sugieren que la discrepancia entre MVICP y MVACP durante el estadio de Codificación provee la mejor distinción entre EA y Controles.

Se utilizó el método de Pearson para calcular la correlación entre las variables de ésta manera se pudo descartar el enmascaramiento de cada una de ellas entre si



Figura 10. A=Grupo Control. B= Grupo EA. Regresión lineal con Diámetro de pupila como variable dependiente. Interacción de Tareas de memoria (TMVICP y TMVACP) sobre el tamaño pupilar en personas sanas (Controles) y en pacientes con EA durante los estadios de Codificación y Reconocimiento. Las barras de error muestran los intervalos de confianza del 95%.

4.4 Uso de la conducta pupilar para predecir Enfermedad de Alzheimer. Regresión logística.

Hemos presentado evidencia sobre las diferencias entre las conductas pupilares de personas sanas (Controles) y pacientes con EA. ¿Pero qué tan buen parámetro es la dilatación de la pupila para clasificar a cada persona dentro del grupo Control o dentro del grupo Alzheimer? En respuesta a esta pregunta, implementamos una regresión logística para determinar si la conducta pupilar es una buena herramienta para diferenciar a las personas Controles de las personas con Enfermedad de Alzheimer. Como esperábamos la conducta pupilar mostró ser un buen predictor de Enfermedad de Alzheimer ($b=0.2739$, $z=2.228$, $p=0.02$) (Fig. 11). Por lo tanto, la conducta pupilar puede considerarse como una herramienta útil al momento de diagnosticar la patología. Cuando analizamos la sensibilidad y la especificidad de clasificación encontramos que el 100% de las personas del grupo Alzheimer (18) fueron clasificados como Alzheimer y que el 94% de las personas Controles fueron clasificados como tales (28 controles de un total de 30) (Tabla 2). Esto se vio reflejado en una sensibilidad del 94% y en una especificidad del 100% (Figura 11)

| Regresión Logística | | |
|---------------------|---------|-----------|
| Predicción | Grupo | |
| | Control | Alzheimer |
| Control | 28 | 0 |
| Alzheimer | 2 | 18 |

Tabla 2. Resultados de clasificación individual en Regresión Logística con pertenencia a grupo (Alzheimer vs control) con pupila como variable.

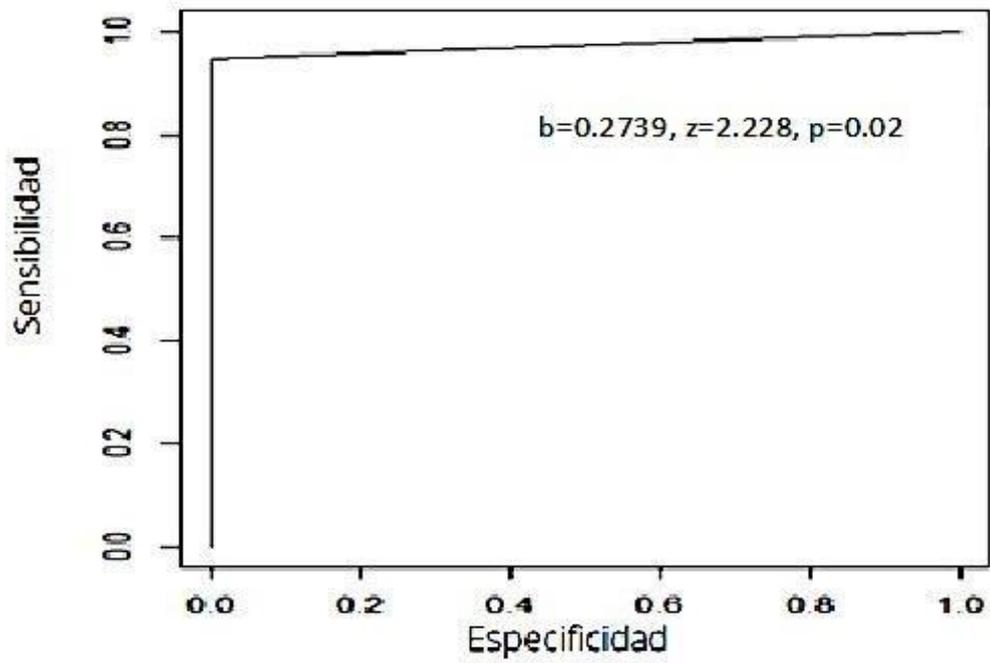


Figura 11. Análisis de Regresión Logística con media de diámetro pupilar como dato de entrada para clasificar sujetos Controles y pacientes con EA.

5. DISCUSIÓN

En esta Tesis mostramos que el comportamiento pupilar vinculado con la memoria, y en particular con la MVICP, se encuentra afectado en pacientes con EA. Los resultados que hemos presentado durante el desarrollo de esta Tesis, sugieren que la conducta pupilar permite cuantificar el rendimiento cognitivo, y clasificar el desempeño individual con un alto grado de especificidad y sensibilidad. La relación entre la carga cognitiva y el tamaño de la pupila también ha demostrado ser útil para medir el desempeño cognitivo durante actividades de la vida diaria en pacientes EA (Granholm y col., 2017). Además, dado que la magnitud de la degeneración del LC y el agotamiento noradrenérgico cortical, se relacionan estrechamente con la severidad de la demencia y el deterioro cognitivo, la asociación entre la dilatación de la pupila, el funcionamiento del Sistema neuromodelador LC y la EA, pueden informar sobre integridad a nivel cerebral en este tipo de pacientes.

En concordancia con nuestros trabajos previos (Fernández y col., 2018; 2019; 2020), los resultados obtenidos en esta Tesis muestran que el tamaño de la pupila aumenta durante las tareas cognitivas en respuesta al aumento de la demanda de procesamiento. Como planteamos en la parte inicial de la Tesis, la TMVICP requiere más recursos cognitivos que la TMVACP, y esto impacta en la dilatación de la pupila: la pupila se dilató significativamente más en TMVICP sólo en Controles. Los resultados aquí presentados aportan nueva evidencia sobre alteraciones en la MVICP en personas con EA. Parra y col., (2011) mostraron que, desde el punto de vista de la respuesta conductual (respuesta “Igual” o “Diferente” de la persona al momento de reconocer figuras) el procesamiento en TMVICP requiere más recursos cognitivos que en la tarea Asociativa

TMVACP, y que dicho procesamiento es independiente de la edad y del nivel educativo. Al agregar aquí el modelado de la conducta pupilar, los pacientes con EA y los Controles revelaron diferencias significativas más grandes y resultados más robustos que los reportados por Parra y col., (2011; 2015; 2018; 2019). Además, mostraron patrones temporales de procesamiento visual (tiempo que tarda en modular la pupila tanto durante el momento de Codificación como durante el momento de Reconocimiento), que sin esta técnica de seguimiento ocular pasarían desapercibidos.

En esta Tesis, los pacientes con EA y los individuos Controles produjeron una dilatación pupilar bien diferenciada durante el procesamiento en TMVICP, donde los Controles mostraron un aumento significativo en el tamaño de sus pupilas (Figura 10), sugiriendo mayor esfuerzo cognitivo con impacto en la MVICP. A su vez, los resultados obtenidos aquí sugieren que la diferencia de desempeño al realizar MVACP vs. MVICP durante la etapa de Codificación proporciona la mejor distinción entre los pacientes con EA y personas sanas o Controles. Como veremos más adelante, contrario a los individuos Controles, en los pacientes con EA, el tamaño pupilar es menor en TMVICP que en TMVACP, mostrando a su vez mayor diferencia en Codificación que en Reconocimiento (Figura 10). Esto sugiere que los mecanismos de Codificación deficientes en EA podrían ser la fuente de alteraciones encontradas en estos pacientes durante la TMVICP.

Por otro lado, en la TMVACP puede verse que el grupo Control dilata menos la pupila que en la TMVICP sugiriendo que el procesamiento les resultaría más sencillo. A nivel molecular, la reducción de las respuestas de la pupila durante la Codificación en el TMVICP podrían ser el resultado de mecanismos de integración subcortical-cortical ineficaces, responsables de activar la integración de características para construir la identidad del objeto (Treisman y col., 1998; Wheeler y Treisman, 2002).

Como vimos, hay amplia evidencia de que la dilatación de la pupila aumenta a medida que las personas deben reconocer mayor número de objetos (Van Gerven y col., 2004; Meghanathan y col., 2014), y esto se vincula con un mejor rendimiento cognitivo (Hannula y col., 2010; Alnaes y col., 2014). Considerando las medidas del presente estudio, los Controles siguen este patrón en la TMVICP, mostrando una mayor dilatación pupilar debido a la acumulación de memoria y a la alta demanda cognitiva. Por el contrario, la dilatación de los pacientes con EA no fue alta y eso demuestra las dificultades cognitivas, reflejadas, en la conducta pupilar. Por lo tanto, la dilatación de la pupila puede ser un marcador adecuado para identificar fluctuaciones sutiles en la carga de memoria y en el procesamiento cognitivo (Unsworth y Robison, 2015; Eckstein y col., 2017).

Nuestros resultados también muestran que la conducta pupilar fue capaz de distinguir con un 94% de sensibilidad y con un 100% de especificidad Controles de pacientes con EA. Este poder clasificatorio fue mejor que el reportado anteriormente por Parra y col. (2015; 2019) o por nosotros en Fernández y col. (2018) donde en lugar de usar pupila se usó la respuesta conductual, amplitud de la sacada y la duración de la mirada.

5.1 Pupila, LC- NA y Enfermedad de Alzheimer

La magnitud de la degeneración del LC y el desbalance noradrenérgico cortical se correlacionarían estrechamente con la presencia de demencia y el deterioro cognitivo. Entonces, dada la asociación entre el funcionamiento del sistema neuromodulador LC-NA, la dilatación de la pupila y la EA, las respuestas pupilares pueden ser un biomarcador útil para diagnosticar pacientes con EA en estadios tempranos. Por otro lado, evidencias recientes (Alanaes y col., 2014, para una revisión) sugieren que los comportamientos oculomotores vinculados al rendimiento cognitivo también pueden informar de forma fiable sobre la presencia de la patología de la enfermedad de Alzheimer (Fernández y col., 2018; Fernández y col., 2020). Además, la correlación entre carga cognitiva y la conducta pupilar ha mostrado ser útil para medir la performance cognitiva durante las actividades en pacientes EA (Granholm y col., 2017). Debido a que el LC es una estructura clave durante la etapa de degeneración temprana en los pacientes con EA, el análisis de las respuestas observables externamente que están vinculadas a la actividad de estos sistemas subcorticales específicos proporcionaría una medida robusta de las demandas de procesamiento cognitivo (Koss y col., 1986). Trabajos de Aston-Jones y Cohen (2005), dan evidencia del estrecho vínculo entre la activación de las neuronas del LC, la posterior liberación del neurotransmisor Noradrenalina desde las terminales nerviosas, la activación simultánea del sistema NA-LC y la activación autosómica responsable del control pupilar. Esto sugeriría que un mecanismo de falla en el LC se vería reflejado en la conducta pupilar y por ello, el análisis de la conducta pupilar podría ser un marcador robusto para detectar procesos de envejecimiento o daño cognitivo a nivel del LC. El hecho de que el LC desempeñe un papel clave tanto en enfocar la

atención como en inactivar la acción de los circuitos neuronales, es en sí mismo una buena premisa neurofisiológica para usar a la pupila como una ventana a los cambios en los estados de conciencia (Bouret y Sara, 2005). En un trabajo presentado en 2015, Ross y col. reportan que la duración de la progresión de la EA se correlacionó significativamente con la pérdida neuronal en el LC. Los análisis post mortem de los tejidos cerebrales de LC en pacientes con EA, indican que la pérdida celular alcanza hasta el 50% en la región rostral del núcleo y, además, esto se correlaciona con una reducción del 31% de los niveles corticales de NA (Matthews y col., 2002). Además, Arendt y col., (2015) utilizaron una estereología imparcial (método preciso para conocer el número de neuronas en un espacio determinado) para demostrar una pérdida significativa de neuronas en el LC positivas de neuromelanina en sujetos clasificados como EA en comparación con los clasificados como Controles. Los sujetos clasificados como Leves/moderados EA mostraron una pérdida de células LC de entre el 30 y el 45 % en comparación con los Controles. Este estudio revela que la pérdida de células del LC parece ocurrir temprano en la progresión clínica de la EA, simultánea con la pérdida celular en los núcleos basales y la corteza entorrinal. Grinberg y Heinsen, (2017) proponen que la pérdida de células LC parece ocurrir al principio de la progresión clínica de la EA, en simultáneo con la pérdida celular en los núcleos basales y la corteza entorrinal como se mencionó anteriormente. Por lo tanto, dados los vínculos entre el tamaño de la pupila y las funciones del sistema neuromodulador de LC, así como entre LC y EA, las respuestas de la pupila durante TMVICP podrían proporcionar un biomarcador de funcionamiento útil, en un sistema cerebral que se ve afectado en las primeras etapas de EA.

En un estudio reciente, Castellotti y col., (2020) sugirieron que el diámetro pupilar es sensible a la actividad cognitiva, y en consecuencia el diámetro pupilar podría estar regulado por vías corticales (además del sistema subcortical propuesto más arriba). Al parecer, la constricción pupilar surge de la activación de núcleo subcortical Edinger-Westphal (EW) (Gamlin y Clarke, 1995), y hay algunos inputs que lo modulan provenientes de áreas corticales (Becket Ebitz y Moore, 2017; Binda y Gamlin, 2017). Otros posibles inputs podrían provenir directamente de la corteza prefrontal, o indirectamente a través de la corteza estriada y el cálculo superior (Becket Ebitz y Moore, 2017). El núcleo EW también recibe inputs inhibitorios desde el Sistema simpático a través de proyecciones del locus coeruleus (Peinkhofer y col., 2019). Una reducción de estos inputs inhibitorios podría resultar en una disminución del diámetro pupilar (Joshi y col.,2016; Wilhelm y col., 2002).

En base a estos antecedentes, nuestro próximo objetivo es evaluar la preservación de volumen en áreas cerebrales tales como Corteza Entorrinal, Corteza Perirrinal y Locus Coeruleus. De esta forma podremos dar evidencias de alteraciones y pérdida de volumen en las áreas afectadas por la enfermedad de Alzheimer, en las distintas etapas de su progresión y su correlación con la conducta pupilar.

6. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

El análisis de la conducta pupilar durante la TVMICP podría arrojar considerable luz sobre el funcionamiento cognitivo y las alteraciones cerebrales en pacientes con EA leve y proporcionar un eficiente biomarcador cognitivo temprano y no invasivo, para la enfermedad de EA. Además, podría servir para evaluar, a través de una metodología sencilla, económica y fácil de usar, la integridad cerebral tanto a nivel cortical (Castelloti y col., 2020) como subcortical (Granholm y col., 2017).

A su vez, las características de desempeño presentes en cada tarea y en cada grupo de personas observadas en este trabajo, no serían posibles de diferenciar sin aplicar la técnica de seguimiento ocular (eye tracking). De hecho, si miramos el desempeño de los sujetos basado en la respuesta conductual, no hay información que permita vincular el bajo desempeño de los EA con la etapa de Codificación de la memoria.

Estas características hacen que la conjunción entre ambos (análisis de la conducta pupilar y la técnica de seguimiento ocular o eye tracking) sea interesante y accesible para aplicar a cualquier Sistema de Salud interesado en la detección temprana de la EA.

El diagnóstico de una patología como el mal de Alzheimer en estadios incipientes no es una tarea sencilla, debido a la gran cantidad de factores que deben tenerse en cuenta a lo largo del tiempo. El estudio y análisis que se ha desarrollado en esta Tesis ofrece un gran potencial en cuanto a la posibilidad de evaluar alteraciones de diversas capacidades cognitivas humanas en estadios tempranos, para facilitar la correcta y rápida utilización de este paradigma por parte de un profesional de la salud.

Esta Tesis abre un nuevo camino en la búsqueda de diagnósticos tempranos no solo para la Enfermedad de Alzheimer, sino también para otras enfermedades

neurodegenerativas como Parkinson, Demencia Fronto Temporal y Demencia Vascolar, entre otras. La tipificación de patologías mediante el análisis de la conducta pupilar abrirá un nuevo campo de estudio para predecir patologías antes de las manifestaciones clínicas tradicionales, posibilitando un tratamiento temprano y una mejor calidad de vida en el paciente.

REFERENCIAS

- Alnæs, D., Sneve, M. H., Espeseth, T., Endestad, T., van de Pavert, S. H. P., & Laeng, B. (2014). Pupil size signals mental effort deployed during multiple object tracking and predicts brain activity in the dorsal attention network and the locus coeruleus. *Journal of vision*, 14(4), 1-1.
- Arendt, T., Brückner, M. K., Morawski, M., Jäger, C., & Gertz, H. J. (2015). Early neurone loss in Alzheimer's disease: cortical or subcortical?. *Acta neuropathologica communications*, 3(1), 1-11.
- Arnsten, A. F., Wang, M. J., & Paspalas, C. D. (2012). Neuromodulation of thought: flexibilities and vulnerabilities in prefrontal cortical network synapses. *Neuron*, 76(1), 223-239.
- Aston-Jones, G., & Cohen, J. D. (2005). An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu. Rev. Neurosci.*, 28, 403-450.
- Bäckman, L., Jones, S., Berger, A. K., Laukka, E. J., & Small, B. J. (2004). Multiple cognitive deficits during the transition to Alzheimer's disease. *Journal of internal medicine*, 256(3), 195-204.
- Baddeley, A. (1992). Working memory. *Science*, 255(5044), 556-559.

- Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory?. *Trends in cognitive sciences*, 4(11), 417-423.
- Baddeley, A. D. (2000). Short-term and working memory. *The Oxford handbook of memory*, 4, 77-92.
- Barbur, J. L. (2004). 'Double-blindsight' revealed through the processing of color and luminance contrast defined motion signals. *Progress in brain research*, 144, 243-259.
- Beatty, J. (1982). Task-evoked pupillary responses, processing load, and the structure of processing resources. *Psychological bulletin*, 91(2), 276.
- Beatty, J., & Kahneman, D. (1966). Pupillary changes in two memory tasks. *Psychonomic Science*, 5(10), 371-372.
- Beatty, J., & Lucero-Wagoner, B. (2000). The pupillary system. *Handbook of psychophysiology*, 2(142-162).
- Bell, C. C. (1994). DSM-IV: diagnostic and statistical manual of mental disorders. *Jama*, 272(10), 828-829.
- Berridge, C. W., & Waterhouse, B. D. (2003). The locus coeruleus–noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive

- processes. *Brain research reviews*, 42(1), 33-84.
- Bertens, D., Tijms, B. M., Scheltens, P., Teunissen, C. E., & Visser, P. J. (2017). Unbiased estimates of cerebrospinal fluid β -amyloid 1–42 cutoffs in a large memory clinic population. *Alzheimer's research & therapy*, 9(1), 1-8.
 - Binda, P., & Gamlin, P. D. (2017). Renewed attention on the pupil light reflex. *Trends in Neurosciences*, 40(8), 455-457.
 - Bouret, S., & Sara, S. J. (2004). Reward expectation, orientation of attention and locus coeruleus-medial frontal cortex interplay during learning. *European Journal of Neuroscience*, 20(3), 791-802.
 - Bouret, S., & Sara, S. J. (2005). Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends in neurosciences*, 28(11), 574-582
 - Bradley, M. M., Miccoli, L., Escrig, M. A., & Lang, P. J. (2008). The pupil as a measure of emotional arousal and autonomic activation. *Psychophysiology*, 45(4), 602-607.
 - Bradshaw, J. (1967). Pupil size as a measure of arousal during information processing. *Nature*, 216(5114), 515-516.
 - Bradshaw, J. L. (1968). Pupil size and problem solving. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 20(2), 116-122.

- Briand, L. A., Gritton, H., Howe, W. M., Young, D. A., & Sarter, M. (2007). Modulators in concert for cognition: modulator interactions in the prefrontal cortex. *Progress in neurobiology*, *83*(2), 69-91.
- Brockmole, J. R., & Logie, R. H. (2013). Age-related change in visual working
- Cacioppo, J. T., Tassinary, L. G., & Berntson, G. (Eds.). (2007). *Handbook of psychophysiology*. Cambridge university press.
- Castellani, R. J. (2020). The significance of tau aggregates in the human brain. *Brain sciences*, *10*(12), 972.
- Castellani, R. J., Plascencia-Villa, G., & Perry, G. (2019). The amyloid cascade and Alzheimer's disease therapeutics: Theory versus observation. *Laboratory Investigation*, *99*(7), 958-970.
- Castellotti, S., Conti, M., Feitosa-Santana, C., & Del Viva, M. M. (2020). Pupillary response to representations of light in paintings. *Journal of Vision*, *20*(10), 14-14.
- Coello, Y., Danckert, J., Blangero, A., & Rossetti, Y. (2007). Do visual illusions probe the visual brain?: Illusions in action without a dorsal visual stream. *Neuropsychologia*, *45*(8), 1849-1858.
- Dayan, P., & Yu, A. J. (2006). Phasic norepinephrine: a neural interrupt signal for unexpected events. *Network: Computation in Neural Systems*, *17*(4), 335-350.

- De la Barrera, M., Donolo, D., & Cristina Rinaudo, M. (2010). Risk of dementia and education levels: When to learn is healthier of that than we think. *ANALES DE PSICOLOGIA*, 26(1), 34-40.
- Delis, D. C. (2000). California verbal learning test. *Adult version. Manual. Psychological Corporation.*
- Della Sala, S., Kozlova, I., Stamate, A., & Parra, M. A. (2018). A transcultural cognitive marker of Alzheimer's Disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 33(6), 849-856.
- Devilbiss, D. M., & Waterhouse, B. D. (2011). Phasic and tonic patterns of locus coeruleus output differentially modulate sensory network function in the awake rat. *Journal of neurophysiology*, 105(1), 69-87.
- Ebitz, R. B., & Moore, T. (2017) Selective modulation of the pupil light reflex by microstimulation of prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, 37(19), 5008-5018.
- Eckstein, M. K., Guerra-Carrillo, B., Singley, A. T. M., & Bunge, S. A. (2017). Beyond eye gaze: What else can eyetracking reveal about cognition and cognitive development?. *Developmental cognitive neuroscience*, 25, 69-91.
- Elshtain, E. L., & Schaefer, T. (1968). Effects of storage load and word frequency

- on pupillary responses during short-term memory. *Psychonomic Science*, 12(4), 143-144.
- Fernández, G., Biondi, J., Castro, S., & Agamenonni, O. (2016). Pupil size behavior during online processing of sentences. *Journal of Integrative Neuroscience*, 15(04), 485-496.
 - Fernández, G., Orozco, D., Agamenonni, O., Schumacher, M., Sañudo, S., Biondi, J., & Parra, M. A. (2018). Visual processing during short-term memory binding in mild Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 63(1), 185-194.
 - Fernández, G., Orozco, D., Sgrilli, G., Linares, R., Schumacher, M., & Parra, M. A. (2019, July). Oculomotor responses linked to cognitive markers for Alzheimer's disease can enhance risk profiling in patients with Mild Cognitive Impairment. In *Alzheimer's Association International Conference*.
 - Foote, S. L., Bloom, F. E., & Aston-Jones, G. (1983). Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiological reviews*, 63(3), 844-914.
 - Gamlin, P. D., & Clarke, R. J. (1995). The pupillary light reflex pathway of the primate. *Journal of the American Optometric Association*, 66(7), 415-418.
 - Granholm, E. L., Panizzon, M. S., Elman, J. A., Jak, A. J., Hauger, R. L., Bondi, M. W., ... & Kremen, W. S. (2017). Pupillary responses as a biomarker of early risk for Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 56(4), 1419-1428.

- Granholm, E., Asarnow, R. F., Sarkin, A. J., & Dykes, K. L. (1996). Pupillary responses index cognitive resource limitations. *Psychophysiology*, *33*(4), 457-461.
- Gredebäck, G., & Melinder, A. (2011). Teleological reasoning in 4-month-old infants: pupil dilations and contextual constraints. *PLoS one*, *6*(10), e26487.
- Grinberg, L. T., & Heinsen, H. (2017). Light at the beginning of the tunnel? Investigating early mechanistic changes in Alzheimer's disease. *Brain*, *140*(11), 2770-2773.
- Hannula, D. E., Althoff, R. R., Warren, D. E., Riggs, L., Cohen, N. J., & Ryan, J. D. (2010). Worth a glance: using eye movements to investigate the cognitive neuroscience of memory. *Frontiers in human neuroscience*, *4*, 166.
- Harley, C. W. (2007). Norepinephrine and the dentate gyrus. *Progress in brain research*, *163*, 299-318.
- Hess, E. H., & Polt, J. M. (1960). Pupil size as related to interest value of visual stimuli. *Science*, *132*(3423), 349-350.
- Hess, E. H., & Polt, J. M. (1964). Pupil size in relation to mental activity during simple problem-solving. *Science*, *143*(3611), 1190-1192.
- Hess, E. H., Seltzer, A. L., & Shlien, J. M. (1965). Pupil response of hetero-and

- homosexual males to pictures of men and women: A pilot study. *Journal of Abnormal Psychology, 70*(3), 165.
- Jack Jr, C. R., Wiste, H. J., Vemuri, P., Weigand, S. D., Senjem, M. L., Zeng, G., ... & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2010). Brain beta-amyloid measures and magnetic resonance imaging atrophy both predict time-to-progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Brain, 133*(11), 3336-3348.
 - Janisse, M. P. (1973). Pupil size and affect: A critical review of the literature since 1960. *Canadian Psychologist/Psychologie canadienne, 14*(4), 311.
 - Jeannerod, M., & Jacob, P. (2005). Visual cognition: a new look at the two-visual systems model. *Neuropsychologia, 43*(2), 301-312.
 - Jones, N. P., Siegle, G. J., Muelly, E. R., Haggerty, A., & Ghinassi, F. (2010). Poor performance on cognitive tasks in depression: Doing too much or not enough?. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience, 10*(1), 129-140.
 - Joshi, S., Li, Y., Kalwani, R. M., & Gold, J. I. (2016). Relationships between pupil diameter and neuronal activity in the locus coeruleus, colliculi, and cingulate cortex. *Neuron, 89*(1), 221-234.
 - Just, M. A., & Carpenter, P. A. (1993). The intensity dimension of thought: pupillometric indices of sentence processing. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale, 47*(2), 310.

- Kahneman, D. (1973). *Attention and effort* (Vol. 1063, pp. 218-226). Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Kahneman, D., Beatty, J., & Pollack, I. (1967). Perceptual deficit during a mental task. *Science*, *157*(3785), 218-219.
- Karatekin, C., Marcus, D. J., & Couperus, J. W. (2007). Regulation of cognitive resources during sustained attention and working memory in 10-year-olds and adults. *Psychophysiology*, *44*(1), 128-144.
- Kim, M., Beversdorf, D. Q., & Heilman, K. M. (2000). Arousal response with aging: Pupillographic study. *Journal of the International Neuropsychological Society*, *6*(3), 348-350.
- Kobashi, H., Kamiya, K., Ishikawa, H., Goseki, T., & Shimizu, K. (2012). Daytime variations in pupil size under photopic conditions. *Optometry and Vision Science*, *89*(2), 197-202.
- Koppa, A., Frommann, I., Polcher, A., Parra, M. A., Maier, W., Jessen, F., ... & Wagner, M. (2015). Feature binding deficits in subjective cognitive decline and in mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, *48*(s1), S161-S170.
- Koss, M. C. (1986). Pupillary dilation as an index of central nervous system α 2-adrenoceptor activation. *Journal of pharmacological methods*, *15*(1), 1-19.

- Kuipers, J. R., & Thierry, G. (2013). ERP-pupil size correlations reveal how bilingualism enhances cognitive flexibility. *Cortex*, 49(10), 2853-2860.

- Laeng, B., Sirois, S., & Gredebäck, G. (2012). Pupillometry: A window to the preconscious?. *Perspectives on psychological science*, 7(1), 18-27

- Landes, A. M., Sperry, S. D., & Strauss, M. E. (2005). Prevalence of apathy, dysphoria, and depression in relation to dementia severity in Alzheimer's disease. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 17(3), 342-349.

- Leigh, R. J., & Zee, D. S. (2015). *The neurology of eye movements*. Contemporary Neurology.

- Man, D., & Vision, A. (1982). A computational investigation into the human representation and processing of visual information. *WH San Francisco: Freeman and Company, San Francisco*.

- Matthews, K. L., Chen, C. P. H., Esiri, M. M., Keene, J., Minger, S. L., & Francis, P. T. (2002). Noradrenergic changes, aggressive behavior, and cognition in patients with dementia. *Biological psychiatry*, 51(5), 407-416.

- Mayer, J. S., Bittner, R. A., Nikolić, D., Bledowski, C., Goebel, R., & Linden, D. E. (2007). Common neural substrates for visual working memory and attention. *Neuroimage*, 36(2), 441-453.

- McIntyre, C. K., McGaugh, J. L., & Williams, C. L. (2012). Interacting brain systems modulate memory consolidation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *36*(7), 1750-1762.
- Meghanathan, R. N., van Leeuwen, C., & Nikolaev, A. R. (2015). Fixation duration surpasses pupil size as a measure of memory load in free viewing. *Frontiers in human neuroscience*, *8*, 1063.
- memory: a study of 55,753 participants aged 8–75. *Frontiers in psychology*, *4*
- Milner, B. (1966). Amnesia following operation on the temporal lobes. *Amnesia*.
- Molitor, R. J., Ko, P. C., & Ally, B. A. (2015). Eye movements in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, *44*(1), 1.
- Moscovitch, M., & Winocur, G. (1992). The neuropsychology of memory and aging. *The handbook of aging and cognition*, *315*, 372.
- Naveh-Benjamin, M., & Mayr, U. (2018). Age-related differences in associative memory: Empirical evidence and theoretical perspectives. *Psychology and Aging*, *33*(1), 1.
- Norton, D. J., Parra, M. A., Sperling, R. A., Baena, A., Guzman-Velez, E., Jin, D. S., ... & Quiroz, Y. T. (2020). Visual short-term memory relates to tau and amyloid burdens in preclinical autosomal dominant Alzheimer's disease. *Alzheimer's*

research & therapy, 12(1), 1-11.

- Parra, M. A., Abrahams, S., Fabi, K., Logie, R., Luzzi, S., & Sala, S. D. (2009). Short-term memory binding deficits in Alzheimer's disease. *Brain, 132(4)*, 1057-1066.
- Parra, M. A., Abrahams, S., Logie, R. H., & Della Sala, S. (2009). Age and binding within-dimension features in visual short-term memory. *Neuroscience letters, 449(1)*, 1-5.
- }Parra, M. A., Abrahams, S., Logie, R. H., Méndez, L. G., Lopera, F., & Della Sala, S. (2010). Visual short-term memory binding deficits in familial Alzheimer's disease. *Brain, 133(9)*, 2702-2713.
- Parra, M. A., Calia, C., García, A. F., Olazarán-Rodríguez, J., Hernandez-Tamames, J. A., Alvarez-Linera, J., ... & Guinea, S. F. (2019). Refining memory assessment of elderly people with cognitive impairment: insights from the short-term memory binding test. *Archives of gerontology and geriatrics, 83*, 114-120.
- Parra, M. A., Della Sala, S., Abrahams, S., Logie, R. H., Méndez, L. G., & Lopera, F. (2011). Specific deficit of colour–colour short-term memory binding in sporadic and familial Alzheimer's disease. *Neuropsychologia, 49(7)*, 1943-1952.
- Parra, M. A., Della Sala, S., Logie, R. H., & Morcom, A. M. (2014). Neural correlates of shape–color binding in visual working memory. *Neuropsychologia, 52*, 27-36.
-

- Parra, M. A., Fabi, K., Luzzi, S., Cubelli, R., Hernandez Valdez, M., & Della Sala, S. (2015). Relational and conjunctive binding functions dissociate in short-term memory. *Neurocase*, 21(1), 56-66.
- Parra, M. A., Mikulan, E., Trujillo, N., Sala, S. D., Lopera, F., Manes, F., ... & Ibáñez, A. (2017). Brain information sharing during visual short-term memory binding yields a memory biomarker for familial Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research*, 14(12), 1335-1347.
- Parra, M. A., Saarimäki, H., Bastin, M. E., Londoño, A. C., Pettit, L., Lopera, F., ... & Abrahams, S. (2015). Memory binding and white matter integrity in familial Alzheimer's disease. *Brain*, 138(5), 1355-1369.
- Partala, T., & Surakka, V. (2003). Pupil size variation as an indication of affective processing. *International journal of human-computer studies*, 59(1-2), 185-198.
- Payne, D. T., Parry, M. E., & Harasymiw, S. J. (1968). Percentage of pupillary dilation as a measure of item difficulty. *Perception & Psychophysics*, 4(3), 139-143.
- Peavler, W. S. (1974). Pupil size, information overload, and performance differences. *Psychophysiology*, 11(5), 559-566
- Peinkhofer, C., Knudsen, G. M., Moretti, R., & Kondziella, D. (2019). Cortical modulation of pupillary function: systematic review. *PeerJ*, 7, e6882.
-

- Pereira, M. L.G., Camargo, M. v. Z. A., Aprahamian, I., & Forlenza, O. V. (2014). Eye movement analysis and cognitive processing: Detecting indicators of conversion to Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 10, Article 1273-1285.

- Pietto, M., Parra, M. A., Trujillo, N., Flores, F., García, A. M., Bustin, J., ... & Baez, S. (2016). Behavioral and electrophysiological correlates of memory binding deficits in patients at different risk levels for Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(4), 1325-1340.

- Piquado, T., Isaacowitz, D., & Wingfield, A. (2010). Pupillometry as a measure of cognitive effort in younger and older adults. *Psychophysiology*, 47(3), 560-569.

- Pliatsikas, C., Veríssimo, J., Babcock, L., Pullman, M. Y., Gleib, D. A., Weinstein, M., ... & Ullman, M. T. (2019). Working memory in older adults declines with age, but is modulated by sex and education. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 72(6), 1308-1327.

- Posner, M. I., Cohen, Y., & Rafal, R. D. (1982). Neural systems control of spatial orienting. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 298(1089), 187-198.

- Prather, S. C., Votaw, J. R., & Sathian, K. (2004). Task-specific recruitment of dorsal and ventral visual areas during tactile perception. *Neuropsychologia*, 42(8), 1079-1087.

- Prettyman, R., Bitsios, P., & Szabadi, E. (1997). Altered pupillary size and darkness and light reflexes in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 62(6), 665-668.

- Privitera, C. M., Renninger, L. W., Carney, T., Klein, S., & Aguilar, M. (2010). Pupil dilation during visual target detection. *Journal of Vision*, 10(10), 3-3.

- Rayner, K. (1998). Eye movements in reading and information processing: 20 years of research. *Psychological bulletin*, 124(3), 372.

- Rhodes, S., Parra, M. A., & Logie, R. H. (2016). Ageing and feature binding in visual working memory: The role of presentation time. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 69(4), 654-668.

- Ross, J. A., McGonigle, P., & Van Bockstaele, E. J. (2015). Locus coeruleus, norepinephrine and A β peptides in Alzheimer's disease. *Neurobiology of stress*, 2, 73-84.

- Samuels, E. R., & Szabadi, E. (2008). Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part I: principles of functional organisation. *Current neuropharmacology*, 6(3), 235-253.

- Sara, S. J., & Bouret, S. (2012). Orienting and reorienting: the locus coeruleus mediates cognition through arousal. *Neuron*, 76(1), 130-141.

- Schaefer, T., Ferguson, J. B., Klein, J. A., & Rawson, E. B. (1968). Pupillary responses during mental activities. *Psychonomic Science*, 12(4), 137-138.
- Schmidt, F. A., Ruprecht, K., Connolly, F., Maas, M. B., Paul, F., Hoffmann, J., ... & Schreiber, S. J. (2017). B-mode ultrasound assessment of pupillary function: Feasibility, reliability and normal values. *Plos one*, 12(12), e0189016.
- Siegle, G. J., Chauhan, N. B., & Feinstein, D. L. (2008). Statin therapy is associated with reduced neuropathologic changes of Alzheimer disease. *Neurology*, 71(5), 383-383.
- Sperling, R. (2011). The potential of functional MRI as a biomarker in early Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 32, S37-S43.
- Steinhauer, S. R., Siegle, G. J., Condray, R., & Pless, M. (2004). Sympathetic and parasympathetic innervation of pupillary dilation during sustained processing. *International journal of psychophysiology*, 52(1), 77-86.
- Treisman, A. (1998). Feature binding, attention and object perception. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 353(1373), 1295-1306.
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: From mind to brain. *Annual review of psychology*, 53(1), 1-25.
-

- Ullman, S. (2000). *High-level vision: Object recognition and visual cognition*. MIT press.

- Unsworth, N., & Robison, M. K. (2015). Individual differences in the allocation of attention to items in working memory: Evidence from pupillometry. *Psychonomic Bulletin & Review*, 22(3), 757-765.

- Unsworth, N., & Robison, M. K. (2017). A locus coeruleus-norepinephrine account of individual differences in working memory capacity and attention control. *Psychonomic bulletin & review*, 24(4), 1282-1311.

- Van Der Meer, E., Beyer, R., Horn, J., Foth, M., Bornemann, B., Ries, J., ... & Wartenburger, I. (2010). Resource allocation and fluid intelligence: Insights from pupillometry. *Psychophysiology*, 47(1), 158-169.

- Van der Wel, P., & van Steenbergen, H. (2018). Pupil dilation as an index of effort in cognitive control tasks: A review. *Psychonomic bulletin & review*, 25(6), 2005-2015.

- Van Gerven, P. W., Paas, F., Van Merriënboer, J. J., & Schmidt, H. G. (2004). Memory load and the cognitive pupillary response in aging. *Psychophysiology*, 41(2), 167-174.

- Von der Malsburg, C. (1999). The what and why of binding: the modeler's perspective. *Neuron*, 24(1), 95-104.

- Waldemar, G., Phung, K. T., Burns, A., Georges, J., Hansen, F. R., Iliffe, S., ... & Sartorius, N. (2007). Access to diagnostic evaluation and treatment for dementia in Europe. *International Journal of Geriatric Psychiatry: A journal of the psychiatry of late life and allied sciences*, 22(1), 47-54.
- Wenk, G. L. (2003). Neuropathologic changes in Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Psychiatry*, 64, 7-10.
- Wheeler, M. E., & Treisman, A. M. (2002). Binding in visual short term memory. *J Exp Psychol Gen*, 131, 48-64.
- Wilhelm, B. J., Wilhelm, H., Moro, S., & Barbur, J. L. (2002). Pupil response components: studies in patients with Parinaud's syndrome. *Brain*, 125(10), 2296-2307.
- Winn, B., Whitaker, D., Elliott, D. B., & Phillips, N. J. (1994). Factors affecting light-adapted pupil size in normal human subjects. *Investigative ophthalmology & visual science*, 35(3), 1132-1137.

i.



Secretaria
 General de
 Posgrado y
 Educación
 Continua
 08.04.2022
 10:08:58

- Yarbus, A. L. (1967). *Eye movements and vision*. Ed. Riggs LA.(trans: Haigh B).
- Yoshimoto, S., Imai, H., Kashino, M., & Takeuchi, T. (2014). Pupil response and the subliminal mere exposure effect. *PLoS One*, *9*(2), e90670.
- Yassuda, M. S., Carthery-Goulart, M. T., Cecchini, M. A., Cassimiro, L., Fernandes, K. D., Baradel, R. R., ... & Parra, M. A. (2020). Free recall of bound information held in short-term memory is unimpaired by age and education. *Archives of Clinical Neuropsychology*, *35*(2), 165-175.
- Zimmer H, Mecklinger A Y Lindenberger U. (2006) (Handbook of Binding andMemory: Perspectives From Cognitive Neuroscience. Oxford University Press ISBN(s) 9780198529675